

Aus der  
Urologischen Klinik und Poliklinik,  
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. Christian G. Stief

# Effekte von Inhibitoren der Polo-like Kinase 1 auf die glattemuskuläre Kontraktion der humanen Prostata

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Paul Kuppermann  
aus Stuttgart  
2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Martin Hennenberg

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Patrick J. Bastian  
Prof. Dr. Paul Gerhard Fabricius

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 29.04.2021

# Inhaltsverzeichnis

1	Vorwort	1
2	Wissenschaftlicher Hintergrund	3
2.1	Anatomie der Prostata	3
2.1.1	Makroskopischer Aufbau	3
2.1.2	Mikroskopischer Aufbau	4
2.1.3	Gefäßversorgung und Innervation	4
2.2	Physiologie der Prostata	5
2.2.1	Sekretproduktion	5
2.2.2	Sekretemission und Ejakulation	5
2.2.3	Endokrine Regulation	6
2.3	Glatte Muskulatur der Prostata	7
2.3.1	Tonus der glatten Prostatamuskulatur	7
2.3.2	$\alpha$ 1-Adrenerge Kontraktion der humanen Prostata	7
2.3.3	Nicht-Adrenerge Kontraktion der humanen Prostata	11
2.4	Benignes Prostatasyndrom (BPS)	12
2.4.1	Übersicht und Definition	12
2.4.2	Epidemiologie	13
2.4.3	Pathophysiologie und Ätiologie	14
2.4.4	Symptomatik	17
2.4.5	Komplikationen	18
2.4.6	Diagnostik	18
2.4.7	Therapie	20
2.5	Polo-like Kinase 1	27
2.5.1	PLK1 und Zellzyklus	28
2.5.2	PLK1 und glattmuskuläre Kontraktion	31
2.5.3	Inhibition der PLK1	32
3	Zielsetzung	35

4	Material und Methoden	37
4.1	Geräte und Versuchsaufbau	37
4.2	Gewebeprobe	38
4.3	Versuchsdurchführung	39
4.4	Lösungen und Puffer	42
4.5	Inhibitoren	45
4.5.1	SBE 13	46
4.5.2	Cyclapolin 9	46
4.5.3	TAK 960	47
4.5.4	Ro 3280	48
4.6	Agonisten	49
4.6.1	Noradrenalin, Phenylephrin und Methoxamin	49
4.6.2	U46619	52
4.6.3	Endothelin-1	53
4.6.4	Elektrische Feldstimulation (EFS)	54
4.7	Auswertung und statistische Methoden	55
5	Ergebnisse	57
5.1	Effekte von SBE 13	57
5.1.1	Noradrenalin-induzierte Kontraktion	57
5.1.2	Phenylephrin-induzierte Kontraktion	59
5.1.3	Methoxamin-induzierte Kontraktion	61
5.1.4	U46619-induzierte Kontraktion	63
5.1.5	Endothelin-1-induzierte Kontraktion	65
5.1.6	EFS-induzierte Kontraktion	67
5.2	Effekte von Cyclapolin 9	69
5.2.1	Noradrenalin-induzierte Kontraktion	69
5.2.2	Phenylephrin-induzierte Kontraktion	71
5.2.3	Methoxamin-induzierte Kontraktion	73
5.2.4	U46619-induzierte Kontraktion	75
5.2.5	Endothelin-1-induzierte Kontraktion	77
5.2.6	EFS-induzierte Kontraktion	79

5.3	Effekte von Tak 960	81
5.3.1	EFS-induzierte Kontraktion	81
5.4	Effekte von Ro 3280	83
5.4.1	EFS-induzierte Kontraktion	83
6	Diskussion	85
7	Zusammenfassung	93
8	Literaturverzeichnis	95
9	Anhang	105
9.1	Abbildungsverzeichnis	105
9.2	Tabellenverzeichnis	106
9.3	Danksagung	109
9.4	Veröffentlichung der vorgestellten Ergebnisse	110



## Abkürzungsverzeichnis

5ARI	5 $\alpha$ -Reduktasehemmer
A.	Arteria (Singular)
Aa.	Arteriae (Plural)
Abb.	Abbildung
ANOVA	<i>analysis of variance</i>
ATP	Adenosintriphosphat
BOO	<i>bladder outlet obstruction</i>
BPE	<i>benign prostatic enlargement</i>
BPH	Benigne Prostatahyperplasie
BPO	<i>benign prostatic obstruction</i>
BPS	Benignes Prostatasyndrom
bzw.	beziehungsweise
Ca	Calcium
CDK	<i>cyclin-dependent kinase</i>
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
cm	Zentimeter
DAG	Diacylglycerin
DGU	Deutsche Gesellschaft für Urologie
DHT	Dihydrotestosteron
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure ( <i>deoxyribonucleic acid</i> )
DRU	digital-rektale Untersuchung
EAU	<i>European Association of Urology</i>
ECT2	<i>epithelial cell transforming sequence 2</i>
ED	erektile Dysfunktion
EFS	elektrische Feldstimulation
ET-1	Endothelin-1, analog für ET-2 und ET-3
ET <sub>A</sub>	Endothelinrezeptor A, analog für ET <sub>B</sub>
FGF	<i>fibroblast growth factor</i>
g	Gramm
GDP	Guanosindiphosphat
Gll.	glandulae (Plural)
GTP	Guanosintriphosphat
Hz	Hertz

ICD-10	<i>international classification of diseases 10</i>
ICD-11	<i>international classification of diseases 11</i>
IGF	<i>insulin-like growth factor</i>
IP3	Inositol-1,4,5-trisphosphat
IPSS	<i>International Prostate Symptom Score</i>
JNK	c-Jun N-terminal Kinase
KCl	Kaliumchlorid
l	Liter
Ligg.	ligamenta (Plural)
LUTS	<i>lower urinary tract symptoms</i>
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
min	Minute
MKLP1	<i>mitotic kinesin-like protein 1</i>
MLCK	<i>Myosin-light-chain-kinase</i>
MLCP	<i>Myosin-light-chain-phosphatase</i>
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mN	Millinewton
mol	Mol
MPF	<i>M-phase promoting factor</i>
MRA	Muskarinrezeptorantagonist
Nll.	nodi lymphatici (Plural)
nM	Nanomolar
Nn.	Nervi (Plural)
OAB	<i>Overactive Bladder</i>
OP	Operation
PAK	<i>p21-activated kinase</i>
PBD	Polo-Box-Domäne
PDE5	Phosphodiesterase 5
PIP2	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
PLK1	Polo-like Kinase 1, analog für PLK2-5
pM	Pikomolar
PSA	Prostataspezifisches Antigen
$Q_{\max}$	maximale Harnflussrate
RACGAP1	RAC GTPase-aktivierendes Protein 1



Ser	Serin
SFK	SRC Familie Kinase
siRNA	<i>small interfering ribonucleic acid</i>
Tab.	Tabelle
Thr	Threonin
TURP	Transurethrale Resektion der Prostata
TXA <sub>2</sub>	Thromboxan A <sub>2</sub>
V.	Vena (Singular)
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
Vv.	Venae (Plural)
WHO	<i>World Health Organization</i>
WW	<i>Watchful Waiting</i>
μl	Mikroliter
μM	Mikromolar



# 1 Vorwort

Das benigne Prostatasyndrom (BPS) ist eine der häufigsten Krankheiten im steigenden Alter und kann mit deutlichen Einschränkungen der Lebensqualität einhergehen [1, 2]. Laut Untersuchungen zur Epidemiologie des BPS in Deutschland ist mehr als ein Drittel der über-70-Jährigen von einem BPS mit behandlungsbedürftigen Symptomen (definiert als *International Prostate Symptom Score*, IPSS >7) betroffen [3].

In der Pathophysiologie der urethralen Obstruktion im Rahmen des BPS spielt der Tonus der glatten Prostatamuskulatur eine wichtige Rolle. Die Senkung des glattemuskulären Tonus stellt daher eine wichtige therapeutische Strategie dar. Der derzeitige Standard ist die Behandlung mit  $\alpha_1$ -Adrenozeptorantagonisten ( $\alpha_1$ -Blocker), die mittels Hemmung der  $\alpha_1$ -adrenorezeptorvermittelten Kontraktion die Symptomatik verbessern können [4]. In Studien konnte eine dem Placebo überlegene Verminderung des IPSS-Scores durch  $\alpha_1$ -Blocker gezeigt werden [5]. Ihr praktischer Nutzen unterliegt dennoch Einschränkungen: Neben einem *non-responder*-Anteil von 30 % sind insbesondere unerwünschte Arzneimittelwirkungen wie Schwindel, Kopfschmerzen und Hypotension zu nennen [1]. Daher erscheint die weitere Forschung zur Regulation der glattemuskulären Kontraktion der Prostata sowie alternativen pharmakologischen Therapieoptionen wichtig.

Nicht nur im Hinblick auf das individuelle Leiden der Betroffenen, sondern auch durch die hohe Prävalenz des BPS im fortgeschrittenen Alter, ist Forschung auf diesem Gebiet von Interesse. Da das BPS eine mit dem höheren Alter assoziierte Erkrankung ist, ist durch den demografischen Wandel der Bevölkerungsstruktur auch in Zukunft mit einer steigenden Anzahl von Patienten mit LUTS im Rahmen eines BPS zu rechnen [1]. Auch die Verordnungen von  $\alpha_1$ -Blockern in Deutschland unterlagen im Zeitraum von 2006 bis 2015 einem konstanten Wachstum. Während 2006 noch 215 Millionen definierte Tagesdosen verordnet wurden, waren es 2015 schon 380 Millionen [6].

In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass die Regulation der glattnuskulären Kontraktion der Prostata komplexer ist, als bisher angenommen. Während lange Zeit die Annahme herrschte, Rezeptoren für Endothelin 1 (ET-1), Thromboxan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) sowie  $\alpha_1$ -Adrenorezeptoren würden über eine Aktivierung der drei intrazellulären Signalkaskaden DAG/PKC, Phospholipase C/IP<sub>3</sub> und RhoA/Rho-Kinase den Muskeltonus steuern, geht man mittlerweile von deutlich mehr beteiligten Signalwegen aus [7]. In Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass beispielsweise die Hemmung von verschiedenen Kinasen und GTPasen, wie RacGTPasen oder p21-aktivierten Kinasen (PAK), die glattnuskuläre Prostatakontraktion herabsetzen kann [8, 9].

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob auch eine Hemmung der Proteinkinase Polo-Like-Kinase 1 (PLK1) Effekte auf die Kontraktion der glatten Prostata-muskulatur hat. Die PLK1 ist eine Serin/Threonin Kinase, deren Rolle in der Regulation des Zellzyklus schon länger bekannt ist [10]. Li et al. (2016) untersuchten die Beteiligung der PLK1 bei der Kontraktion glatter Muskelzellen im respiratorischen System. Die Ergebnisse legen nahe, dass die PLK1 durch Modulation der Phosphorylierung von Vimentin die Kontraktion glatter Muskulatur reguliert [11].

Aufgrund dieser Beobachtungen wurden in dieser Arbeit mögliche Auswirkungen einer Inhibition der PLK1 auf die glattnuskuläre Kontraktion humanen Prostatagewebes untersucht. Humanes Prostatagewebe von Patienten, die sich einer radikalen Prostatektomie unterzogen, wurde mit PLK1-Inhibitoren versetzt und anschließend auf Kontraktilität untersucht. Folgende PLK1-Inhibitoren wurden dabei verwendet: SBE 13, Cyclapolin 9, Tak 960 und Ro 3280.

## 2 Wissenschaftlicher Hintergrund

### 2.1 Anatomie der Prostata

Die Prostata (Vorsteherdrüse) ist eine akzessorische Genitaldrüse und befindet sich im Spatium extraperitoneale pelvis. Ihre Basis ist mit dem Blasen Hals verwachsen und umfasst die proximale Urethra. Die Spitze (Apex) sitzt dem Beckenboden auf. Dorsal grenzt das Rektum an, getrennt durch eine bindegewebige Faszia (fascia rectoprostatica). Ventral ist die Prostata ligamentär mit der Symphyse verbunden (ligg. puboprostatica), lateral durch fibromuskuläre Verbindungen im muskulären Beckenboden fixiert. [1, 12]

#### 2.1.1 Makroskopischer Aufbau

Die Prostata ist beim Erwachsenen ein etwa kastaniengroßes, unpaares Organ, wobei die Größe besonders im zunehmenden Alter sehr variabel ist. Im physiologischen Zustand beträgt die Größe etwa 4 cm in der Breite und 2-3 cm im Sagittaldurchmesser bei einem Gewicht von ca. 20 g. Man unterscheidet zwei Seitenlappen (lobus dexter, lobus sinister), die ventral durch den Isthmus prostaticae und dorsal durch den lobus medius verbunden sind. Von dorsokranial treten die Ductuli ejaculatorii, ein Zusammenschluss aus Ductus deferens und Ductus excretorius, in die Prostata ein. Sie durchziehen die Prostata und münden auf dem Colliculus seminalis in die Urethra. [1, 12]

Nach McNeal wird das Gewebe der Drüse in drei Zonen gegliedert. Die schmale Periurethralzone umfasst die proximale Urethra und ist die kleinste der drei Zonen. Die zentral gelegene, nach dorsokranial ziehende Innenzone macht etwa 25 % der Organmasse aus. Dorsal, lateral und kaudal liegt der Innenzone die Außenzone an, die 70 % des Gewebes umfasst. Außerdem lassen sich die paraurethral gelegenen Drüsenlappen der Transitionszone und eine anteriore, drüsenfreie Zone abgrenzen. [12, 13]

### 2.1.2 Mikroskopischer Aufbau

Histologisch besteht die Prostata aus 40-50 tubuloalveolären Drüsen. Diese münden über 15-30 Ausführungsgänge in die Urethra. Die Epithelhöhe des zwei- bis mehrreihigen prismatischen Epithels ist vom Androgenspiegel sowie dem Aktivitätszustand der Drüsen abhängig. Während aktive Drüsen durch hochprismatisches Epithel gekennzeichnet sind, findet sich in wenig aktiven Drüsen meist kubisches oder sogar flaches Epithel. Im Drüsenlumen kommen gelegentlich eosinophile Prostatasteine aus eingedicktem Sekret vor. Das die Drüsen umgebende Stroma besteht aus Bindegewebe mit Kollagenfasern, elastischen Fasern und glatten Muskelzellen, die für die Kontraktion der Prostata verantwortlich sind. [13]

Umgeben ist die Prostata von einer fibrösen Kapsel [1].

### 2.1.3 Gefäßversorgung und Innervation

Die Prostata liegt im Versorgungsgebiet der Arteria iliaca interna und wird vor allem durch Rami prostatici der A. vesicalis inferior und A. rectalis media versorgt. Der venöse Abfluss erfolgt über den Plexus venosus prostaticus, der über den Plexus venosus vesicalis und die Vv. Vesicales in die V. iliaca interna drainiert. Durch eine Anastomose besteht jedoch auch eine Verbindung zum Plexus venosus vertebralis, über den der venöse Ablauf durch V. azygos / hemiazygos in die V. cava superior erfolgt. Der Lymphabfluss läuft über die Nll. iliaci interni und externi sowie Nll. sacrales in lumbale Knoten. [12]

Die vegetative Innervation erfolgt durch den Plexus prostaticus. Der Plexus prostaticus umspannt die Prostata schleierförmig oberhalb der fibrösen Kapsel, die einzelne Äste durchdringen. Sympathische Fasern aus den Nn. splanchnici lumbales und sacrales (Rückenmarkssegmente L1-L2) sind in der Prostata für die Sekretabgabe verantwortlich. Die deutlich geringer ausgeprägte parasympathische Versorgung des Plexus prostaticus entstammt den Nn. splanchnici pelvici. [1, 12]

## 2.2 Physiologie der Prostata

### 2.2.1 Sekretproduktion

Während Spermatozoen weniger als 1 % des Ejakulats ausmachen, besteht der Großteil aus dem Sekret der akzessorischen Geschlechtsdrüsen. Das sogenannte Seminalplasma bietet ein optimales Milieu für die Vitalität und Funktion der Spermien. 70 % des Volumens des Seminalplasmas bilden die Gll. vesiculosae, rund 30 % die Prostata und geringe Mengen die Gll. bulbourethrales und Nebenhoden. [14, 15]

Das Sekret der Prostata ist charakterisiert durch einen leicht sauren pH-Wert von 6,4. Es enthält unter anderem Natrium-, Kalium-, Zink-, Citrat- und Phosphationen, saure Phosphatase und Proteine wie das prostataspezifische Antigen (PSA). Von Epithelzellen sezerniertes Sekret befindet sich im Lumen der Drüsen und wird bei der Ejakulation über die Ausführungsgänge ausgestoßen. [14]

### 2.2.2 Sekretemission und Ejakulation

Die Sekretemission bezeichnet den Transport der Komponenten des Spermas in die pars prostatica der Urethra durch unwillkürliche Kontraktion der glatten Muskulatur von Ductus deferens, Nebenhoden, Samenblasen und Prostata sowie quergestreifter Beckenbodenmuskulatur [15, 16]. Dabei bildet sich durch Vermischung der einzelnen Komponenten von unterschiedlicher Herkunft das Ejakulat mit einem Gesamtvolumen von durchschnittlich 3 ml [14, 15]. Die darauffolgende Ejakulation beschreibt den Ausstoß des Ejakulats über die Urethra durch den Meatus urethrae externus, ausgelöst durch 3-10 rhythmische Kontraktionen der perinealen Muskulatur [15, 16]. Durch die gleichzeitige Kontraktion der Urethra im Bereich proximal der Mündungen der Ducti ejaculatorii wird eine retrograde Ejakulation in die Harnblase verhindert [12, 16].

Der Prozess von Emission und Ejakulation wird durch Impulse aus dem sogenannten Ejakulationszentrum in den Rückenmarksabschnitten L2 und L3 ausgelöst [15]. Taktile Reize aus der Glans penis gelangen vom Sakralmark zum Ejakulationszentrum und

werden auf efferente sympathische Fasern umgeschaltet, die für die Kontraktion der an Emission und Ejakulation beteiligten glatten Muskulatur verantwortlich sind [16]. Die Impulse für die unwillkürliche Kontraktion der perinealen Muskulatur stammen ebenfalls aus den Segmenten L2/L3 [16].

### 2.2.3 Endokrine Regulation

Die Regulation von Wachstum und Funktion der Prostata erfolgt auf verschiedenen Ebenen. Neben Wachstumsfaktoren, Zell-Zell-Kommunikation und Interaktionen mit der extrazellulären Matrix ist hierbei vor allem die Wirkung von endogenen Hormonen wie Testosteron zu nennen. Freies Testosteron aus dem Serum wird nach Aufnahme in prostatiche Zellen zu über 90 % mittels der  $5\alpha$ -Reduktase zu Dihydrotestosteron (DHT) metabolisiert [14]. DHT ist in der Prostata biologisch aktiver als Testosteron. Es sind drei Isoformen der  $5\alpha$ -Reduktase bekannt, die organabhängig in unterschiedlichem Ausmaß vorkommen und an verschiedenen Biosynthesen beteiligt sind [17].

In der Prostata spielen vor allem Typ 1 und 2 eine wichtige Rolle. Während Typ 1 in geringem Maße in luminalen Epithelzellen und in Stromazellen vorkommt, wird Typ 2 in basalen Epithelzellen und vor allem Stromazellen exprimiert. DHT oder Testosteron bindet an zytoplasmatische Androgenrezeptoren. Diese werden nach Ligandenbindung durch verschiedene posttranslationale Modifikationen wie Phosphorylierung aktiviert und dimerisieren daraufhin. Anschließend werden sie ATP-abhängig in den Zellkern transportiert. Dort sind Androgenrezeptor-Dimere als Transkriptionsfaktoren verantwortlich für die Transkription spezifischer Genabschnitte. Wenngleich Androgene insbesondere während der Embryonalentwicklung essentiell für Entwicklung und Wachstum der Prostata sind, ist ihre isolierte Wirkung nicht ausreichend für ein vollständiges Wachstum der Prostata. [14, 18]



## 2.3 Glatte Muskulatur der Prostata

### 2.3.1 Tonus der glatten Prostatamuskulatur

Der Tonus der glatten Muskulatur der Prostata unterliegt vielfältigen Regulationsmechanismen, die bislang nur unvollständig verstanden sind. Dies betrifft zum einen die beteiligten extrazellulären Auslöser (Katecholamine,  $\text{TXA}_2$ , Endotheline und möglicherweise weitere Faktoren) und ihre Rezeptoren und zum anderen die intrazellulären Mediatoren der Kontraktion. Dabei konnte zuletzt immer mehr Signalwegen, Kinasen und GTPasen eine Beteiligung nachgewiesen werden. [7]

Die Kontraktion ist letztendlich das Zusammenspiel von Krafterzeugung durch phosphorylierte Myosin-Leichtketten und Kraftübertragung durch das Zytoskelett [11, 19]. Aus physiologischer Sicht ist die glatte Muskulatur der Prostata während der Ejakulation für die Emission des Prostatasekrets aus den Drüsenlumen in die Urethra zuständig. Ausgelöst werden die Kontraktionen während der Ejakulation durch postganglionär noradrenerge Fasern. [16]

### 2.3.2 $\alpha_1$ -Adrenerge Kontraktion der humanen Prostata

Die Effekte der endogenen Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin resultieren aus der Aktivierung der im jeweiligen Gewebe exprimierten Adrenozeptoren. Es ist bekannt, dass in humanem Prostatagewebe drei Unterformen des  $\alpha_1$ -Adrenozeptors vorkommen:  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  und  $\alpha_{1D}$  [20-22]. Den überwiegenden Anteil davon stellen mit etwa 70 %  $\alpha_{1A}$ -Rezeptoren, die für die glattemuskuläre Kontraktion in der Prostata hauptsächlich verantwortlich sind [20, 23, 24]. Dementsprechend kommen  $\alpha_{1A}$ -Rezeptoren vor allem im Stroma der Prostata vor, wo sich die glatte Muskulatur befindet [25]. Eine möglicherweise weitere Unterform des  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptors stellt der sogenannte  $\alpha_{1L}$ -Adrenozeptor dar, der sich durch eine deutlich verringerte Affinität gegenüber dem  $\alpha_1$ -Blocker Prazosin auszeichnet [7]. Der  $\alpha_{1L}$ -Adrenozeptor stellt jedoch vermutlich lediglich einen Phänotyp des  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptor dar und wird von demselben

Gen kodiert [26]. Auch in anderen Bereichen des unteren Harntraktes werden  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren exprimiert: Sowohl Ureter, Harnblase als auch Urethra weisen  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren auf, wobei die Rolle der Rezeptoren weniger gut bekannt ist als in der Prostata [7, 23]. Möglicherweise sind im Gegensatz zur Prostata in der Harnblase vor allem  $\alpha_{1D}$ -Adrenozeptoren für die Kontraktion verantwortlich [7]. Im Nebenhoden, Samenstrang und in den Samenbläschen konnte ebenfalls das Vorkommen von  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren nachgewiesen werden [23]. Ähnlich wie in der Prostata scheint die Kontraktion dieser Strukturen des Genitaltraktes überwiegend durch  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptoren vermittelt zu werden [23].

Bei den  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren handelt es sich um G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, die aus sieben Transmembranhelices bestehen. Im Ruhezustand, das heißt ohne gebundenen Liganden, bindet der Rezeptor auf seiner zytosolischen Seite an den namensgebenden heterotrimeren G-Protein-Komplex. Dieser besteht aus jeweils einer  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheit. Die  $\alpha$ -Untereinheit bindet ein Molekül GDP, das nach Bindung eines Agonisten an den Rezeptor durch eine Konformationsänderung des Rezeptors gegen ein Molekül GTP ausgetauscht wird. Daraufhin dissoziiert der G-Protein-Komplex und zwei aktive Moleküle stehen für die intrazelluläre Signalweiterleitung zur Verfügung: Die GTP-gebundene  $\alpha$ -Untereinheit sowie ein Dimer bestehend aus  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheit. [27]

Anschließend führen verschiedene Signalkaskaden zur Kontraktion der glatten Muskulatur:

**PLC/IP<sub>3</sub>:** Die aktivierte  $G\alpha$ -Untereinheit aktiviert die membranständige Phospholipase C (PLC), welche sodann Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP<sub>2</sub>) hydrolysiert und damit zwei Botenstoffe erzeugt: Diacylglycerin (DAG) und Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP<sub>3</sub>) [27, 28]. IP<sub>3</sub> diffundiert im Zytosol an das sarkoplasmatische Retikulum und bewirkt durch Öffnung IP<sub>3</sub>-sensitiver, sarkoplasmatischer Calciumkanäle einen Anstieg der intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Konzentration [27, 29]. Durch die folgende Depolarisation des Membranpotentials öffnen sich spannungsabhängige Calciumkanäle

der Zellmembran und sorgen für einen weiteren starken Anstieg der zytosolischen  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration. Ab einer Konzentration von ca.  $10^{-7}$  mol/l bildet das im Zytoplasma vorliegende Protein Calmodulin einen Komplex mit vier Calciumionen, der die Myosin-leichte-Ketten-Kinase (MLCK) aktiviert [16]. Diese phosphoryliert die leichten Myosinketten und der Querbrückenzyklus kann stattfinden [16].

**DAG/PKC:** Das durch die PLC gebildete DAG aktiviert die Proteinkinase C (PKC), die wiederum die Myosin-leichte-Ketten-Phosphatase (MLCP) hemmt [21]. Die leichten Myosinketten bleiben phosphoryliert und der Querbrückenzyklus somit aktiv [16]. Dieser Mechanismus steuert die glattmuskuläre Kontraktion ohne Veränderung der zytosolischen Calciumkonzentration. Stattdessen wird die Kontraktion bei gleichbleibendem Calciumspiegel gesteigert, man spricht daher von Calciumsensitivierung [16].

**RhoA/Rho-Kinase:** Auch der RhoA/Rho-Kinase-Signalweg beruht auf Calciumsensitivierung [30]. Das G-Protein RhoA aus der Gruppe der kleinen monomeren GTPasen aktiviert die Rho-Kinase, die die Myosinbindungsstelle der MLCP phosphoryliert [28]. Dadurch wird die MLCP inaktiviert und die Kontraktion bleibt somit bestehen [28]. Die Rho-Kinase ist an vielen weiteren Zellfunktionen beteiligt, unter anderem an Zytokinese, Zellproliferation und der Organisation des Zytoskeletts [31]. Die Inhibition des RhoA/Rho-Kinase-Signalwegs in der Prostata hemmt daher sowohl die glattmuskuläre Kontraktion als auch die Zellproliferation [32-34].

Diese drei klassischen Signalwege sind die hauptsächlichen Vermittler der Kontraktion in glatter Muskulatur [16]. Darüber hinaus wurde in den vergangenen Jahren weiteren Signalwegen eine Beteiligung an der glattmuskulären Kontraktion nachgewiesen. Beispiele für neue Signalwege, die auch in der Prostata gezeigt wurden, sind die c-Jun N-terminal Kinase (JNK) und Caldesmon.

Die JNK ist eine Mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK), die unter anderem am Zellzyklus beteiligt ist [35]. Auch an der  $\alpha_1$ -Adrenozeptor-vermittelten Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata ist die JNK beteiligt, wie Kontraktionsmessungen im Organbadversuch zeigen konnten [36].

Caldesmon nimmt über das Zytoskelett Einfluss auf die glattmuskuläre Kontraktion und spielt auch in der  $\alpha_1$ -Adrenozeptor-vermittelten Kontraktion eine Rolle [7]. Unphosphoryliertes Caldesmon blockiert durch seine Bindung an Aktinfilamente die Anheftung der Myosinköpfe [37]. Erst die Phosphorylierung von Caldesmon ermöglicht die Freigabe der Aktinfilamente und damit den Ablauf des Querbrückenzyklus [37]. Auch in humanem Prostatagewebe kommt es nach Stimulation durch  $\alpha_1$ -Agonisten zur Phosphorylierung von Caldesmon [38].

Ähnlich wie in anderen Organen sind die Adrenozeptoren in der Prostata auch an nicht-motorischen Signalwegen beteiligt, die Einfluss auf den Zellzyklus nehmen [7]. Es konnte gezeigt werden, dass die sympathomimetische Stimulation des Prostatagewebes von Nagern zu einer Hyperplasie der Prostata führt [39, 40]. Auch in Zellkulturen mit humanen Stromazellen und glatten Muskelzellen der Prostata wurde nach Stimulation mit Noradrenalin eine Aktivierung der Proliferation durch P44/42 MAPK beobachtet [41]. Neben MAPK werden auch Transkriptionsfaktoren wie Elk1 und SRF durch  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren aktiviert [42]. Grundlage dafür könnte sein, dass die  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren auch entkoppelt von G-Proteinen mit Clathrinen und  $\beta$ -Arrestin 2 interagieren, die wiederum die vorher genannten MAPK aktivieren können [7, 43-45]. Die  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren der Prostata sind daher nicht nur binäre Regulatoren der Kontraktion, sondern weitaus integrativere Rezeptoren und im Zusammenspiel mit unterschiedlichen Bindungspartnern an vielfältigen Prozessen in der Zelle beteiligt [7].

Trotzdem konnten bisher nur ansatzweise In-vivo-Effekte von  $\alpha_1$ -Blockern auf den Zellzyklus von Prostatagewebe gezeigt werden [46]. Auch eine Reduktion des Prostatavolumens durch  $\alpha_1$ -Blocker wurde trotz ihres weit verbreiteten klinischen Einsatzes

bislang nicht berichtet [7]. Durch die Beteiligung der prostatistischen Adrenozeptoren, sowohl an motorischen als auch nicht-motorischen Funktionen, stellen sie eine Verbindung zwischen dynamischer und statischer Komponente des BPS dar [7].

### 2.3.3 Nicht-Adrenerge Kontraktion der humanen Prostata

Neben der adrenergen Kontraktion der glatten Muskulatur, vermittelt durch Adrenozeptoren, spielen auch nicht-adrenerge Mediatoren in der Prostata eine Rolle:

**Thromboxan A<sub>2</sub>:** Das Arachidonsäurederivat Thromboxan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) vermittelt die Kontraktion glatter Muskelzellen über einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor und die Signalwege PLC/IP<sub>3</sub>, DAG/PKC und RhoA/Rho-Kinase, vergleichbar mit der Adrenozeptor-vermittelten Kontraktion [47].

Auch in der glatten Muskulatur der humanen Prostata konnte das Vorkommen von TXA<sub>2</sub>-Rezeptoren und deren Beteiligung an der Kontraktion nachgewiesen werden. Die TXA<sub>2</sub>-Synthase ist jedoch nicht wie die glatte Muskulatur im Stroma lokalisiert, sondern im Drüsenepithel der Prostata. Daher wird vermutet, dass TXA<sub>2</sub> parakrine Epithel-Stroma-Interaktionen vermittelt. [34]

**Endotheline:** Auch Endotheline lösen eine Kontraktion der glatten Muskulatur in der Prostata aus [48-50]. Die Familie der Endotheline besteht aus drei Peptidhormonen, ET-1, -2 und -3 [51]. Diese binden mit unterschiedlicher Affinität an die G-Protein-gekoppelten Endothelinrezeptoren ET<sub>A</sub> und ET<sub>B</sub>. Beide Rezeptortypen treten mit unterschiedlichem Verteilungsmuster innerhalb der Prostatazonen in der humanen Prostata auf und sind sowohl in Drüsenepithel als auch Stroma nachweisbar [52, 53].

**Weitere Signalwege:** Außerdem konnten in humanem Prostatagewebe Dopaminrezeptoren, muskarinische Cholinrezeptoren, Serotoninrezeptoren und Histaminrezeptoren nachgewiesen werden, die Effekte auf die glattemuskuläre Kontraktion haben [54]. Tatsächlich scheinen die Kontraktionen durch diese Rezeptoren jedoch schwach

zu sein oder nur eine geringe Rolle zu spielen [55].

## 2.4 Benignes Prostatasyndrom (BPS)

### 2.4.1 Übersicht und Definition

Es hat sich eine vielfältige Terminologie zur möglichst genauen Beschreibung der Pathologien, Syndrome und Diagnosen im Zusammenhang mit obstruktiven, Prostata-assoziierten Miktionsbeschwerden des unteren Harntraktes etabliert.

Das benigne Prostatasyndrom (BPS) bezeichnet die variable Trias aus einer Vergrößerung der Prostata (*benign prostatic enlargement*, BPE), Blasenauslassobstruktion (*bladder outlet obstruction*, BOO) und den Symptomen des unteren Harntraktes (*lower urinary tract symptoms*, LUTS) bei Männern über 40 Jahren [56]. Das BPS ist eine progrediente Erkrankung [3]. Der häufig fälschlicherweise synonym verwendete Begriff benigne Prostatahyperplasie (BPH) beschreibt hingegen eine histologische Diagnose, die auch symptomlos verlaufen und erst postoperativ, nach Biopsie oder post mortem gestellt werden kann [1]. Eine BPH ist jedoch häufig Ursache für eine BPE und somit des BPS. BPH und LUTS können gleichzeitig auftreten, aber auch BPH ohne LUTS – und umgekehrt [14]. Sofern eine BPH oder ganz allgemein BPE Ursache einer BOO ist, spricht man von einer benignen Prostataobstruktion (*benign prostatic obstruction*, BPO) [57].

Im angloamerikanischen Sprachraum wird mit Blick auf die häufig zugrunde liegende Pathologie statt BPS der Terminus *LUTS suggestive of BPH* genutzt [58]. Der variablen Relation zwischen Symptomatik, Volumen der Prostata und Grad der Obstruktion wird jedoch die Bezeichnung BPS eher gerecht [58]. Die in diesem Kontext verwendeten Codes in der WHO-Klassifikation ICD-10 (N40) und ICD-11 (GA90) sind als *Hyperplasie der Prostata* benannt [59, 60].

Unter dem Begriff LUTS werden die vielfältigen Symptome des unteren Harntraktes zusammengefasst, die durch Störungen der Blasenentleerung verursacht werden. LUTS beschreibt damit ein klinisches Symptombild unabhängig der zugrundeliegenden Ursache. Der untere Harntrakt wird dabei als funktionelle Einheit verstanden. Wenngleich Pathologien der Prostata häufig an der Pathogenese von LUTS beteiligt sind, gibt es auch andere Ursachen für die Symptome des unteren Harntraktes bei Männern. Beispiele sind neurogene Blasenfunktionsstörungen, maligne Erkrankungen oder Entzündungen der ableitenden Harnwege. [1, 61]

#### 2.4.2 Epidemiologie

Eine Herausforderung in der Auswertung und dem Vergleich von Studien zur Epidemiologie des BPS sind zum einen die unterschiedlichen Definitionen von BPH und BPS und zum anderen der unterschiedliche Einsatz von Diagnosekriterien wie etwa Prostataavolumen, maximalem Harnfluss oder Symptomscores. Dies führt zu mitunter deutlichen Unterschieden in publizierten Daten zu Inzidenz und Prävalenz des BPS beziehungsweise LUTS bei Männern [3]. Zudem übernehmen, zumindest in Deutschland, nicht ausschließlich Urologen die Behandlung des BPS, was oft in einem unterschiedlichen Ausmaß durchgeführter Diagnostik resultiert [3]. Darüber hinaus befindet sich ein Großteil der Männer mit LUTS diesbezüglich nicht in ärztlicher Behandlung, auch bedingt durch den global gesehen unterschiedlichen Zugang zu medizinischer Versorgung [58]. Dennoch kann das BPS durch seine hohe Prävalenz als Volkskrankheit des Mannes bezeichnet werden [1]. Laut Metaanalysen sind etwa 40 % der Männer über 50 Jahren von einem BPS betroffen [1]. Mit dem Alter steigt auch die Prävalenz des BPS [3]. Dass die Prävalenz der BPH mit dem Alter zunimmt, konnte unter anderem in Autopsiestudien gezeigt werden: Während bei den unter-30-Jährigen keine BPH auftritt, steigt die Prävalenz ab der vierten Lebensdekade nahezu linear an und erreicht in der neunten Lebensdekade fast 100 % [1, 14].

Einen detaillierten, repräsentativen Blick auf die Epidemiologie des BPS in Deutschland gibt die Herner BPS- und LUTS-Studie. Hochgerechnet von den Daten aus dieser Studie auf die deutsche Gesamtbevölkerung im Jahr 2000 kann man davon ausgehen, dass zu diesem Zeitpunkt 3,23 Millionen Männer über 50 Jahre eine BPE (Prostatavolumen >25 ml) aufwiesen [3]. Knapp über 2 Millionen Männer litten an einer BOO ( $Q_{\max} < 10$  ml/s) und 1,5 Millionen an einem BPS mit hohem Progressionsrisiko und behandlungsbedürftigen LUTS (Prostatavolumen >40 ml und IPSS >7) [3]. Mit Blick auf die mit dem Alter steigende Prävalenz des BPS und den demografischen Wandel ist davon auszugehen, dass die Zahl der Betroffenen in Deutschland seither weiter zugenommen hat und auch in Zukunft weiter zunehmen wird.

Der sozioökonomische Status und die Zugehörigkeit zu unterschiedlichen ethnischen Gruppen haben vermutlich keinen Einfluss auf die Epidemiologie von LUTS im Allgemeinen und BPS im Speziellen; es zeigen sich jedoch zumindest Unterschiede in der Therapie und dem Umgang mit den Beschwerden [2, 14]. Im weltweiten Vergleich von epidemiologischen Studien scheint es teilweise regionale Unterschiede in der Prävalenz von BPS beziehungsweise LUTS zu geben [14, 62]. Diese sind jedoch unter den eingangs erwähnten Einschränkungen in der Vergleichbarkeit von Definitionen und Diagnosekriterien zu sehen; außerdem konzentriert sich die Mehrzahl der Untersuchungen auf Europa, Nordamerika und Japan [14].

Epidemiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass es sich bei dem BPS bei über 70% der Patienten um eine progredient verlaufende Erkrankung handelt [3]. Neben einem höheren Alter sind ein erhöhtes Restharnvolumen, eine geringe Harnflussrate und hohe IPSS-Werte wichtige Risikofaktoren [3, 63].

#### 2.4.3 Pathophysiologie und Ätiologie

Die dem BPS zugrunde liegende BPO kann auf zwei unterschiedlichen pathophysiologischen Faktoren beruhen. Zum einen kommt es durch Hyperplasie der prostatichen



Epithel- und Stromazellen in der periurethralen Zone zu einer Volumenzunahme der Prostata und folglich zu einer Obstruktion der Urethra. Zum anderen führt auch eine Tonuszunahme der glatten Muskulatur im Stroma zu einer urethralen Obstruktion. Daher spricht man von der statischen (Vergrößerung der Prostata) und der dynamischen (Tonuszunahme) Komponente des BPS. [19, 64]

Der auslösende Mechanismus der BPH, und damit der statischen Komponente des BPS, ist nicht geklärt. Sowohl Androgene, Östrogene, Wachstumsfaktoren und Neurotransmitter, als auch veränderte Epithel-Stroma-Interaktionen könnten an der Entstehung der BPH beteiligt sein. In der Transitionszone beginnend kommt es in der periurethralen Zone der Prostata zur Entstehung von hyperplastischen Knoten [65, 66]. Während in den ersten 20 Jahren der Entwicklung einer BPH die Zunahme der Anzahl dieser langsam wachsenden Knoten im Vordergrund steht, dominiert anschließend eher das Größenwachstum der Knoten [14, 65]. Das Volumen der Transitionszone scheint jedoch auch unabhängig von der Entstehung von Knoten mit dem Alter zuzunehmen [14].

Da sich bei präpubertären Kastraten und Patienten mit einem gestörten Androgenstoffwechsel keine BPH entwickelt, ist davon auszugehen, dass Androgene für die Entwicklung einer BPH nötig sind. Außerdem konnten einige Studien Veränderungen des Androgenstoffwechsels oder erhöhte Konzentrationen des Androgenrezeptors in BPH-Gewebe feststellen. Dennoch sind Androgene nicht der Auslöser der Erkrankung. [14, 67, 68]

Die Beteiligung von Wachstumsfaktoren an der Pathophysiologie liegt durch den proliferativen Charakter der BPH nahe. Tatsächlich belegen eine Reihe von Untersuchungen die veränderte Expression von verschiedenen Wachstumsfaktoren wie VEGF, IGF und FGFs in BPH-Gewebe. [69-72]

Auch Störungen der parakrinen Zell-Zell-Interaktion von Epithel und Stroma werden als Auslöser oder zumindest beteiligter Faktor in der Pathogenese der BPH diskutiert [73].

Neben den bereits genannten Faktoren sind möglicherweise auch andere Signalwege, Hormone, genetische Einflüsse, systemische Erkrankungen oder entzündliche Vorgänge an der Entstehung der BPH sowie am Wachstum der Prostata beteiligt.

Die Kapsel der menschlichen Prostata verhindert offenbar die freie Ausdehnung der Prostata und verstärkt somit die Kompression und folglich Obstruktion der Urethra. Diese Annahme wird gestützt durch die Beobachtung, dass eine Inzision der Kapsel zu einer Reduktion der Obstruktion führt. [14]

Die dynamische Komponente des BPS beschreibt den Einfluss des Tonus der glatten Muskulatur auf die urethrale Obstruktion. Glatte Muskulatur stellt im Falle einer BPH über ein Fünftel des Prostatagewebes dar [74]. BPH-Gewebe zeigt gegenüber physiologischem Prostatagewebe einen veränderten Aufbau der glatten Muskulatur, beispielsweise verändern sich die relativen Anteile der Isoformen der schweren Myosinketten. Durch die vermehrte Expression von schweren Myosinketten des nicht-muskulären Typs entwickelt sich die Zelle hin zu einem proliferativen, dedifferenzierten Typ [75]. Andere Veränderungen betreffen die Expression der Adrenozeptoren. Bei Vorliegen einer BPH ist die  $\alpha_1$ -Adrenozeptor-mRNA mehr als sechsfach erhöht [25]. Außerdem verändern sich offensichtlich die Anteile der  $\alpha_1$ -Adrenozeptor-Subtypen: Während das Verhältnis  $\alpha_{1A} : \alpha_{1B} : \alpha_{1D}$  Adrenozeptor-mRNA ohne BPH 63:6:31 beträgt, liegt es bei BPH-Gewebe bei 85:1:14 [25]. Wie bereits in Kapitel 2.3 erläutert, sind  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren sowohl an motorischen als auch pro-proliferativen Signalwegen beteiligt. Daher stellen sie eine Verbindung zwischen statischer und dynamischer Komponente des BPS dar und tragen auf verschiedenen Wegen zur BPO bei.

Auch das autonome Nervensystem verstärkt LUTS durch Einflüsse auf die glatte Muskulatur. Eine Überaktivität des autonomen Nervensystems, gemessen an klinischen und laborchemischen Parametern, korreliert positiv mit der Symptomatik. [76]

In der Pathophysiologie des BPS darf die Prostata nicht isoliert betrachtet werden. Als Folge der Obstruktion kann es zu einer veränderten Detrusorfunktion kommen, die einen bedeutenden Anteil der LUTS im Rahmen eines BPS ausmachen kann [1, 14]. Die BOO führt zu weitreichenden Veränderungen der Blase in Bezug auf Hypertrophie der glatten Muskulatur, veränderte Proteinexpression und gestörte Zell-Zell-Interaktion, die die resultierenden Symptome erklären [14]. Die herabgesetzte Dehnbarkeit und Stabilität der Muskulatur führen zu Pollakisurie und Drangsymptomatik [14]. Eine verminderte Kontraktilität hingegen trägt zu abgeschwächtem Harnstrahl und Restharnbildung bei [14]. Endoskopisches Korrelat der Adaptation der Blase an veränderte Druckverhältnisse ist die trabekulierte Wandstruktur [77]. Die sogenannte Balkenblase entsteht durch die Zunahme von Kollagen in der Detrusormuskulatur und ist mit erhöhtem Restharnvolumen assoziiert [14, 78]. Auch altersbedingte Veränderungen, neurogene Veränderungen und primäre Erkrankungen der Blase können die Symptomatik im Rahmen eines BPS verstärken und haben möglicherweise sogar einen größeren Einfluss als die Größe der Prostata [14].

#### 2.4.4 Symptomatik

Ausgehend von der Pathophysiologie des BPS teilt sich die Symptomatik in obstruktive und irritative Symptome. Die obstruktiven Symptome bezeichnen Störungen der Blasenentleerung wie Startschwierigkeiten bei der Miktion, einen abgeschwächten Harnstrahl und dadurch eine verlängerte Miktionsdauer. Auch ein Restharngefühl und Harnträufeln bis hin zu einem ständigen Träufeln bei Überlaufinkontinenz sind obstruktive Symptome. Die irritativen Symptome des BPS umfassen Drangsymptomatik, Pollakisurie und Nykturie. [1, 79]

#### 2.4.5 Komplikationen

Die Komplikationen des BPS sind vielfältig und reichen von urologischen Komplikationen bis hin zu psychosozialen Folgen und Depressionen. Eine gefürchtete Komplikation ist der akute Harnverhalt, der eine urologische Notfallsituation darstellt. Weiterhin kann es durch die Obstruktion zu einer Überlaufblase oder Detrusordekompensation kommen. Auch ein Harnstau, Hydronephrose und letztlich eine postrenale Niereninsuffizienz sind möglich. Das Risiko für Blasensteine ist bei Vorliegen eines BPS achtfach erhöht. Außerdem kann es zu Harnblasendivertikeln, einer Makrohämaturie oder einer erektilen Dysfunktion kommen. Durch die unzureichende Blasenentleerung steigt auch das Risiko für bakterielle Infektionen. Beispiele sind eine Zystitis, Pyelonephritis oder eine lebensbedrohliche Urosepsis. Durch den erhöhten intraabdominellen Druck bei forcierter Miktions kann es zu Hernien, Hämorrhoidalleiden und selten Miktions synkopen kommen. [1, 79, 80]

Darüber hinaus sind die psychosozialen Folgen von LUTS im Rahmen eines BPS zu beachten, beispielsweise durch soziale Isolation und Schamgefühle der Betroffenen. Studien konnten eine starke, bidirektionale Verbindung von LUTS und Depressionen zeigen. Die Wahrscheinlichkeit, an einer Depression zu erkranken, ist für Patienten mit LUTS gegenüber der Normalbevölkerung verdoppelt. [81-83]

#### 2.4.6 Diagnostik

Die Diagnose BPS ist eine Ausschlussdiagnose [3]. Die Diagnostik bei Verdacht auf BPS sollte das Ausmaß der Beschwerden quantifizieren, klären, ob die Symptome dem BPS zuzuordnen sind und welches, sofern nötig, das passende Therapieverfahren ist. Die Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Urologie e.V. und der Europäischen Gesellschaft für Urologie (EAU) geben folgende Empfehlungen zur Diagnostik [58, 61, 84]:

**Anamnese:** Grundlage der Diagnostik ist eine ausführliche und zielgerichtete Anamnese, die neben den zuvor genannten Symptomen und Komplikationen unter anderem folgende Punkte beinhalten sollte: Medizinische Vorgeschichte und Begleiterkrankungen, Medikamenteneinnahme und das Abklären möglicher extraprostatischer Ursachen für die Symptome des Patienten.

**Quantifizierung der Symptomatik, Lebensqualität und Leidensdruck:** Ein weit verbreitetes und geeignetes Instrument zur Symptomquantifizierung und Verlaufskontrolle, jedoch nicht zur Diagnosestellung, ist der IPSS. Der Fragebogen umfasst sieben Fragen zur Häufigkeit des Auftretens der klassischen Symptome des BPS sowie eine Frage zur Lebensqualität des Patienten [1]. Mittels IPSS kann eine Einteilung in milde Symptomatik (IPSS <8), mittlere (IPSS =8-19) und schwere Symptomatik (IPSS >20) erfolgen. Als therapiebedürftig gilt das BPS ab einem IPSS-Wert von über 7.

**Körperliche Untersuchung:** Wichtiger Bestandteil der zielgerichteten körperlichen Untersuchung bei Verdacht auf BPS ist die digital-rektale Untersuchung (DRU). Die DRU erlaubt eine Beurteilung des Rektums, des Sphinktertonus sowie Größe, Konsistenz und Dolenz der Prostata. Außerdem wird ein orientierender neurologischer Status empfohlen.

**Laborchemische Untersuchungen:** Ein Urinstatus sollte im Hinblick auf mögliche Differentialdiagnosen und Begleiterkrankungen wie Harnwegsinfekte und Mikrohämaturie durchgeführt werden. Weiterhin kann eine Bestimmung des prostataspezifischen Antigens (PSA) im Serum erfolgen; dieser Parameter ermöglicht Rückschlüsse auf das Größenwachstum der Prostata. Ein hoher PSA-Wert ist außerdem ein Risikofaktor für das Auftreten von Komplikationen im Rahmen des BPS [85]. Dennoch ist die Bestimmung des PSA für die Diagnostik des BPS von untergeordneter Bedeutung [86].

**Uroflowmetrie:** Eine Harnstrahlmessung ist eine nichtinvasive Untersuchung der

Urodynamik, liefert jedoch nur bei Miktionsvolumina über 150 ml verlässliche Ergebnisse. Die Bestimmung des maximalen Harnflusses ( $Q_{\max}$ ) und des Kurvenverlaufs liefert bei Blasenentleerungsstörungen wichtige Hinweise auf die ursächliche Pathologie. Ohne ergänzende Untersuchungen kann die Uroflowmetrie jedoch nicht zwischen einem hypotonen Detrusor und einer BOO unterscheiden [86].

**Sonografische Untersuchungen:** Mittels Ultraschall lassen sich das Prostatavolumen und das Restharnvolumen bestimmen. Das Auftreten von Restharn ist weder beweisend für das BPS noch eine Therapieindikation, jedoch sind hohe Restharnvolumina mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten einer Symptomverschlechterung verbunden [87, 88]. Ein steigendes Restharnvolumen kann außerdem auf einen drohenden akuten Harnverhalt deuten [87]. Weiterhin dient die Sonografie der Blase und Nieren dem Ausschluss von Blasensteinen, Blasendivertikeln, Tumoren und eines Harnstaus. Die sonografische Volumenbestimmung der Prostata erfolgt vorzugsweise transrektal.

Weiterführende radiologische und endoskopische Verfahren sind in der Regel für die Standarddiagnostik des BPS nicht nötig und kommen bei spezielleren Fragestellungen oder LUTS anderer Genese, wie Tumoren oder Harnröhrenstrikturen, zum Einsatz [58]. Auch eine urodynamische Untersuchung mit einer vesikalen und rektalen Drucksonde kommt aufgrund ihrer Invasivität nur als Mittel der letzten Wahl zur Differenzierung zwischen einer BOO und einer Über- oder Unteraktivität des Detrusors zum Einsatz [86].

#### 2.4.7 Therapie

Ausgehend von den Ergebnissen der durchgeführten Diagnostik gilt es zusammen mit dem Patienten das individuell passende Therapieverfahren zu identifizieren. Während bei Patienten mit geringen Beschwerden ein abwartendes Vorgehen gewählt werden kann, steht bei therapiebedürftigen LUTS im Rahmen eines BPS ein breites

Spektrum an Therapiemöglichkeiten zur Verfügung. Die Therapieoptionen aus den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Urologie e.V. und der EAU werden im Folgenden vorgestellt. Sollte es hingegen schon zu Komplikationen im Rahmen des BPS gekommen sein, bedarf es eines spezialisierten Krankheitsmanagements abseits der Standardtherapie des BPS [86, 89].

#### 2.4.7.1 Kontrolliertes Zuwarten und Verhaltenstherapie

Das kontrollierte Zuwarten (*Watchful Waiting*, WW) kommt bei Patienten mit milden bis moderaten LUTS in Betracht, die einen geringen Leidensdruck und kein erhöhtes Progressionsrisiko haben [86]. In diesem Fall empfehlen sich eine gute Aufklärung des Patienten und regelmäßige Kontrollen [56, 84]. In einer Studie zeigte sich, dass über 80 % der Patienten mit milden Symptomen (IPSS <8) nach 17 Monaten WW klinisch stabil waren [90].

Verhaltensänderungen und unterstützende Maßnahmen können einen positiven Einfluss auf die Symptomatik des BPS haben. Neben Blasentraining und verschiedenen Techniken zur Miktionskontrolle spielt die Regulierung der Flüssigkeitszufuhr über den Tag, mit einer leichten Reduzierung abends oder vor bestimmten Tätigkeiten, eine wichtige Rolle [56, 84]. Außerdem wird ein Verzicht auf Alkohol und Koffein sowie eine Medikationsanalyse mit Blick auf diuretisch wirksame Arzneimittel empfohlen [84].

Das Vorliegen von Risikofaktoren für eine BPS-Progression spricht gegen WW und für ein medikamentöses oder operatives Vorgehen. Risikofaktoren sind beispielsweise ein IPSS >7,  $Q_{\max}$  <12 ml/s, Prostatavolumina >30 mL oder ein höheres Alter (>70 Jahre) [56].

#### 2.4.7.2 Medikamentöse Therapie

Die medikamentöse Therapie des BPS kommt idealerweise bei Patienten zum Einsatz, die aufgrund ihrer LUTS im Rahmen des BPS bereit sind, langfristig Medikamente einzunehmen, jedoch keine Operation wünschen und auch keine absolute OP-Indikation

zeigen [4, 14]. In den letzten Jahren hat sich bei der Wahl der Therapieverfahren ein Trend weg von den operativen Verfahren hin zu einer medikamentösen Therapie gezeigt [3, 91]. Dennoch bestehen deutliche Einschränkungen im Nutzen der medikamentösen Therapie. Ein Problem ist, dass die Mehrheit der Patienten mit LUTS eine geringe Compliance aufweist und die Einnahme des verordneten Präparates nur wenige Monate einhält [92]. Gründe dafür sind möglicherweise Nebenwirkungen, unerfüllte Erwartungen seitens der Patienten bezüglich der Symptomverbesserung oder eine unzureichende Aufklärung der Patienten [93]. Tatsächlich sind die verfügbaren Arzneimittel in ihrer Wirksamkeit klar begrenzt. Eine Kohortenstudie im italienischen Gesundheitswesen (Cindolo et al., 2014) konnte zeigen, dass zwölf Monate nach Erstverschreibung nur noch 35 % der Patienten unter Therapie mit  $\alpha_1$ -Blockern ihre Medikation einnahmen. Für die Therapie mit 5 $\alpha$ -Reduktaseinhibitoren (5ARI) und die Kombinationstherapie mit beiden Wirkstoffklassen lag die Compliance noch niedriger [93]. Laut Herner LUTS-Studie erhalten in Deutschland 30 % der Patienten mit einem IPSS >7 dauerhaft Medikamente und weitere 20 % wurden mindestens einmal medikamentös therapiert [3]. Durch die dauerhafte Medikationseinnahme kann die Hospitalisierungsrate und die Krankheitsprogression reduziert werden [93]. Folgende Optionen stehen zur Auswahl:

**$\alpha_1$ -Blocker:** Über eine kompetitive Antagonisierung der  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren reduzieren  $\alpha_1$ -Blocker den glattnuskulären Tonus des unteren Harntraktes [4, 56]. Die verschiedenen Wirkstoffe unterscheiden sich in ihrer Selektivität bezüglich der  $\alpha_1$ -Adrenozeptor-Subtypen, jedoch nicht hinsichtlich ihrer Wirkung bei therapeutischer Dosierung [84].  $\alpha_1$ -Blocker eignen sich besonders für die rasche Symptomreduktion im Hinblick auf die obstruktiven Symptome. In Studien konnten  $\alpha_1$ -Blocker den IPSS um 30-40 % senken und  $Q_{\max}$  um bis zu 25 % erhöhen. [84, 94]. Allerdings kam es auch in den Placebogruppen zu einer Linderung der Symptome. Zwölf Monate nach Therapiebeginn zeigten sich in den Placebogruppen im Durchschnitt eine IPSS-Reduktion von 21,4 % und eine Verbesserung von  $Q_{\max}$  von 12,4 % [95, 96]. Eine weitere Limitation



im Einsatz von  $\alpha_1$ -Blockern ist die hohe Quote von non-respondern. Nur 70 % der Patienten sprechen überhaupt auf die Therapie mit  $\alpha_1$ -Blockern an [1]. Bei bis zu 70 % der Patienten ist die Monotherapie mit  $\alpha_1$ -Blockern unzureichend [97]. Typisch für  $\alpha_1$ -Blocker sind der schnelle Wirkungseintritt innerhalb weniger Tage und die dosisabhängigen Haupt- und Nebenwirkungen. Mögliche Nebenwirkungen treten insbesondere zu Beginn der Therapie auf und umfassen unter anderem Kopfschmerzen, Schwindel, Hypotension und Synkopen [56].

**5 $\alpha$  -Reduktaseinhibitoren (5ARI):** Diese Wirkstoffklasse dient vorrangig der Progressionshemmung und senkt das Risiko für Komplikationen und Prostataoperationen. 5ARI hemmen die Konversion von Testosteron zu DHT und senken bei langfristiger Einnahme die DHT-Konzentration in der Prostata um bis zu 90 % [84]. Der Androgenentzug führt zu einer Apoptose von Epithelzellen der Prostata und reduziert nach 2- bis 4-jähriger Therapie das Prostatavolumen um bis zu 28 % und die LUTS um 30 % [4, 84]. Daher eignet sich die Therapie mit 5ARI vor allem für Patienten mit einem Prostatavolumen von über 40 ml und mittlerer bis schwerer Symptomatik [84]. Eine relevante Symptomreduktion ist jedoch erst nach mehrmonatiger Einnahme zu erwarten [56]. Als unerwünschte Arzneimittelwirkungen treten unter anderem Ejakulationsstörungen, Libidoverlust, erektile Dysfunktion (ED) und Gynäkomastie auf [4]. Eine Besonderheit der Therapie mit 5ARI ist die Reduktion des Serum-PSA um 50 % [84].

**Muskarinrezeptorantagonisten (MRA, Antimuskarinika):** MRA hemmen die cholinerge Kontraktion des Detrusors und erhöhen damit die Blasenkapazität und die Elastizität der Blase [4]. Außerdem hemmen MRA unwillkürliche Detrusorkontraktionen und sind daher zur Behandlung der überaktiven Blase (*overactive bladder*, OAB) zugelassen [4]. Bei BPS-Patienten mit einem eher geringen Prostatavolumen können MRA zur Behandlung der irritativen Symptome zum Einsatz kommen [4, 56]. Häufig werden MRA in Kombination mit  $\alpha_1$ -Blockern bei Patienten mit gemischten Symptomen

(*mixed LUTS*) eingesetzt [98]. Einzelne Wirkstoffe aus der Familie der MRA konnten als Monotherapie in Studien die Dranginkontinenz und Miktionsfrequenz signifikant senken, jedoch nicht das Auftreten von Nykturie oder den IPSS-Gesamtwert [56]. Bislang fehlen jedoch Untersuchungen zur Wirksamkeit von MRA in der Langzeittherapie bei BPS [56, 84]. Nebenwirkungen sind unter anderem Mundtrockenheit, Obstipation, Akkomodationsstörungen und erhöhte Restharnbildung, jedoch kein erhöhtes Risiko für Harnverhalte [4, 98]. Aufgrund des Wirkungsprofils wird eine MRA-Monotherapie nur bei Patienten empfohlen, die hauptsächlich über irritative Symptome klagen und kein Restharnvolumen von über 150 ml aufweisen [84].

**Phosphodiesterase-5-Hemmer (PDE5-Hemmer):** PDE5-Hemmer erhöhen die intrazelluläre Konzentration von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) und verstärken daher die Relaxation glatter Muskulatur [84]. Das Therapieziel ist somit eine schnelle Reduktion der Obstruktion. Außerdem scheinen sie Einflüsse auf Neurotransmission, Blutversorgung und Inflammation im unteren Harntrakt zu haben [84]. Aktuell ist der PDE5-Hemmer Tadalafil zur Therapie von LUTS bei BPS mit oder ohne ED zugelassen [4]. PDE5-Hemmer führen innerhalb weniger Wochen zu einer Besserung der Symptomatik in Bezug auf LUTS (gemessen am IPSS) und ED, scheinen jedoch keinen oder geringen Einfluss auf objektive Parameter wie  $Q_{\max}$  zu haben [84, 99]. Typische Nebenwirkungen von PDE5-Hemmern sind Kopfschmerzen, Dyspepsie und Hitzewallungen [56].

**$\beta_3$ -Agonisten:** Die  $\beta_3$ -Adrenozeptoren der glatten Muskulatur des Detrusors vermitteln eine Relaxation des Detrusors [84].  $\beta_3$ -Agonisten sind daher eine Therapieoption bei OAB und auch im Hinblick auf die irritative Symptomatik des BPS denkbar [92]. Bislang fehlen jedoch Studien zur Beurteilung von Sicherheit und Wirksamkeit bei LUTS im Rahmen des BPS [84].

Kombinationen verschiedener Wirkstoffklassen: Gebräuchliche Kombinations-therapien sind  $\alpha_1$ -Blocker + 5ARI und  $\alpha_1$ -Blocker + MRI. Die Kombination aus  $\alpha_1$ -Blocker und 5ARI sollte vor allem BPS-Patienten mit mittlerer bis schwerer Symptomatik und erhöhtem Progressionsrisiko angeboten werden [84]. Sie kombiniert bei langfristiger Anwendung die Effekte des  $\alpha_1$ -Blockers auf die LUTS und die Progressionshemmung durch 5ARI, jedoch auch die Nebenwirkungen beider Wirkstoffe [4, 84]. Die Kombinationstherapie mit  $\alpha_1$ -Blocker und 5ARI ist der Monotherapie mit jeweils einem Wirkstoff im Hinblick auf Symptomkontrolle und Progressionshemmung signifikant überlegen [100].

Eine Kombination von  $\alpha_1$ -Blocker und MRI bietet sich an, wenn unter Monotherapie weiterhin Speicher- und Entleerungsstörungen bestehen [84]. Die Kombination aus dem MRI Solifenacin mit dem  $\alpha_1$ -Blocker Tamsulosin ist der Tamsulosin-Monotherapie in Bezug auf IPSS-Reduktion überlegen, ohne das Risiko für einen akuten Harnverhalt zu erhöhen [101, 102].

Phytotherapeutika: Die zur Therapie des BPS genutzten Pflanzenextrakte stellen eine sehr heterogene Gruppe von Wirkstoffen dar. Gebräuchliche Ausgangsmaterialien sind beispielsweise Kürbiskerne, Früchte der Sägezahnpalme, südafrikanisches Sternengras und die Rinde des Afrikanischen Pflaumenbaums [84]. Durch unterschiedliche Extraktions- und Verarbeitungsverfahren kommt es auch bei identischen Ausgangsstoffen zu großen Unterschieden zwischen den erhältlichen Präparaten [84]. Daher ist keine generelle Bewertung der Phytotherapie zum Einsatz bei BPS-Patienten möglich und für jedes Präparat ein gesonderter Wirksamkeitsnachweis nötig [56]. Für einzelne Präparate konnte eine gegenüber dem Placebo geringfügig erhöhte, aber signifikante Reduktion der Symptome nachgewiesen werden [4]. Die beobachteten Nebenwirkungen sind in der Regel mild und vergleichbar mit denen des Placebo [84].

#### 2.4.7.3 Operative Therapie

Bei Vorliegen folgender Komplikationen des BPS ist ein operatives Vorgehen indiziert: Rezidivierende Harnverhalte, rezidivierende Harnwegsinfekte, Harnblasenkonglomerate, konservativ nicht beherrschbare Makrohämaturien und eine durch die BPO verursachte Niereninsuffizienz oder Dilatation des oberen Harntraktes [103]. Es stehen vielfältige operative Techniken zur Verfügung, die im Folgenden kurz zusammengefasst werden.

**Transurethrale Resektion der Prostata (TURP):** Die TURP gilt als Referenzverfahren und führt durch die Abtragung des hyperplastischen Prostatagewebes mit mono- oder bipolaren Drahtschlingen zu einer sofortigen und lang anhaltenden Aufhebung der BPO [104]. Sie reduziert effektiv den IPSS (um 66,4–75,5 %) und das Restharnvolumen (durchschnittlich um 60,5 %), erhöht den  $Q_{\max}$  (um 2,8–20,8 ml/s) und verbessert die Lebensqualität [104]. Nachteile der TURP sind der relativ lange postoperative Krankenhausaufenthalt, die Revisionsrate von 5,6 % und Komplikationen wie etwa ein hoher Blutverlust [105, 106]. Abhängig vom Volumen des resezierten Prostatagewebes liegt die Transfusionsrate bei 2,0 bis 8,4 %, und in 0,8 bis 1,4 % der Fälle tritt das sogenannte TUR-Syndrom mit systemischer Aufnahme der hypoosmolaren Spülflüssigkeit auf [106]. Die Rate von perioperativen Komplikationen ist bei Anwendung der bipolaren TURP signifikant geringer als bei der monopolaren TURP – bei gleicher Wirksamkeit [107].

**Greenlightlaser und Holmiumlaser-Enukleation:** Auch verschiedene Laserverfahren, wie der Greenlightlaser und die Holmiumlaser-Enukleation, versprechen eine geringere Komplikationsrate als die monopolare TURP. Der Greenlightlaser vaporisiert das Gewebe und zeichnet sich durch eine geringere Komplikationsrate und einen kürzeren Krankenhausaufenthalt bei gleicher Wirksamkeit gegenüber der monopolaren TURP aus. Die Holmiumlaser-Enukleation der Prostata konnte zusätzlich sogar eine kurzfristig bessere Wirksamkeit als die monopolare TURP zeigen. [107]

**Adenomenukleation:** Die offene Adenomenukleation ist die älteste und invasivste Operationstechnik und kommt heutzutage nur noch bei sehr hohen Prostatavolumina, nebenbefundlichen Pathologien wie Blasensteinen und Blasendivertikeln oder in Ländern mit fehlendem Zugang zu minimal-invasiven Techniken zum Einsatz. Eine moderne Alternative zur offenen Adenomenukleation sind laparoskopische oder roboterassistierte Verfahren, die deutlich weniger invasiv sind. [106]

## 2.5 Polo-like Kinase 1

Die PLK1 ist ein Vertreter der in eukaryotischen Zellen weit verbreiteten Polo-like Kinasen. Es handelt sich um Serin-Threonin Proteinkinasen, deren Rolle als wichtige Regulatoren des Zellzyklus bekannt ist [108, 109]. Die Namensgebung und Erforschung geht zurück auf die Beobachtungen von Sunkel und Glover im Jahre 1988. Sie konnten zeigen, dass homozygote Mutationen des Genlokus *polo* in Larven von *Drosophila* abnormales Verhalten der Zentrosome und eine gestörte Zellteilung verursachen [10]. Es stellte sich heraus, dass die im *polo*-Gen kodierte Kinase in nur gering veränderter Form in vielen Spezies auftritt [110]. Bislang sind fünf PLKs bekannt, die im Menschen vorkommen: PLK1, PLK2, PLK3 sowie PLK4 und PLK5 [108]. Unter diesen ist die PLK1 bisher am besten erforscht und der *drosophila-polo* am ähnlichsten [110, 111].

Alle PLKs haben eine gemeinsame Grundstruktur. C-terminal befindet sich die eine oder mehrere Polo-Boxen enthaltende Polo-Box-Domäne (PBD), N-terminal das katalytische Zentrum der Serin-Threonin Kinase und eine flexible Verbindung dazwischen. Während der strukturelle Aufbau von PLK1 - PLK3 relativ ähnlich ist, zeigen PLK4 und PLK5 deutlichere Unterschiede. Die strukturellen Unterschiede der PLKs führen zu unterschiedlichen Funktionen. [111, 112]

Die PLK4 reguliert die Biogenese und Duplikation der Zentriolen in der S-Phase und ist bisher nur in Spezies bekannt, die über Zentriolen verfügen [111]. Die PLK2 ist ebenfalls an der Duplikation der Zentriolen und zusammen mit der PLK3 an der Aktivierung eines p53-abhängigen Checkpoints in der G2-Phase bei DNA-Schäden beteiligt [111]. Die PLK2 und PLK5 kommen nur in Wirbeltieren vor und beeinflussen dort unter anderem Prozesse im zentralen Nervensystem: Die PLK5 ist beteiligt an der Ausbildung von Neuriten, während die Aktivität der PLK2 für die Modulation von Synapsen von Bedeutung ist [111]. Außerdem reguliert die PLK2 den Abbau von  $\alpha$ -Synuclein und könnte damit einen möglichen Angriffspunkt in der Therapie von Synucleinopathien wie Morbus Parkinson darstellen [113].

In humanem Prostatagewebe sind alle fünf PLK-Unterformen nachweisbar. Immunfluoreszenzfärbungen mit Antikörpern gegen PLK1 und Phospho-PLK1 (Thr-210) zeigten Vorkommen der PLK1 beziehungsweise Phospho-PLK1 sowohl im Stroma als auch im Drüsenepithel. Es wird angenommen, dass die PLK1 durch Phosphorylierung an Threonin-210 aktiviert wird. Die Phospho-PLK1 als aktive Form der PLK1 war im Stroma stärker nachweisbar als im Drüsenepithel. Dies zeigten Versuche, die im Vorfeld der vorgelegten Arbeit im Labor des Promovenden vorgenommen wurden. [19]

Durch die herausgehobene Bedeutung der PLK1 für diese Arbeit wird im Folgenden genauer auf die PLK1 eingegangen.

#### 2.5.1 PLK1 und Zellzyklus

Die Lokalisation, Aktivität und Expression der PLK1 in der Zelle verändern sich im Laufe des Zellzyklus. Die Lokalisation wird häufig über Proteine gesteuert, die an die PBD binden [111]. Die Aktivierung der PLK1 erfolgt über Phosphorylierung durch verschiedene Kinasen und kann über Bindungspartner moduliert werden [111]. Die Expression der PLK1 steigt während der G2-Phase stark an und erreicht ihr Maximum in der frühen Mitosephase, bevor sie anschließend wieder stark abfällt [108].

Während der G2-Phase befindet sich die PLK1 sowohl im Zellkern als auch im Zytosol, vor allem aber im Bereich der Zentrosomen [109, 111]. In der späten G2-Phase ist die PLK1 an der Duplikation und räumlichen Separation der Zentrosomen beteiligt, indem sie unter anderem die Rekrutierung von  $\gamma$ -Globulinen und die Aktivierung von Motorproteinen reguliert [111]. Im Detail läuft die Steuerung der Motorproteine wie folgt ab: Die PLK1 phosphoryliert und aktiviert die Serin-Threonin-Kinasen NEK6, NEK7 und NEK9, die gemeinsam mit der zyklinabhängigen Kinase 1 (*cyclin dependent kinase 1*, CDK1) das Motorprotein Kinesin 5 am Zentrosom phosphorylieren und damit aktivieren [111].

Zu Beginn der Prophase ist die PLK1 ein Schlüsselenzym für den Eintritt in die Mitose, da sie an der Anreicherung und Aktivierung von Cyclin B/CDK1-Komplexen (*M-phase promoting factor*, MPF) mitwirkt [108, 114]. Außerdem ist die PLK1 an der Reparatur von DNA-Schäden am G2-Checkpoint beteiligt und notwendig für die Fortsetzung der Zellteilung nach erfolgter Reparatur [111, 115]. Während DNA-Schäden normalerweise die PLK1 hemmen, kommt es in mutierten Zellen mit dauerhaft aktivierter PLK1 zum Eintritt in die Mitose trotz DNA-Schäden [115]. Ab der Prophase verlagert sich die PLK1 zunehmend an die Chromosomen, wo sie durch Phosphorylierung der Cohesin-Untereinheit SA2 die Cohesinkomplexe von den Chromosomen entfernt [109, 111]. Die Cohesinkomplexe halten durch ihre ringförmige Struktur die Schwesterchromatiden der Länge nach aneinander, bis der Großteil in der Prophase entfernt wird und nur noch Cohesinringe im Bereich der Zentromere übrig bleiben. Diese wiederum werden zu einem späteren Zeitpunkt im Zellzyklus vor Separation der Chromatiden vom Enzym Separase entfernt [111]. Auch an der Aktivierung der Separase scheint die PLK1 beteiligt zu sein [109]. Ab der Prometaphase ist die PLK1 vor allem im Bereich der Kinetochore zu finden und spielt dort vor allem bei der Stabilisierung der Verbindung von Mikrotubuli und Kinetochoren eine Rolle [111]. Kurz vor Trennung der in der Metaphasenplatte befindlichen Schwesterchromatiden wird durch Ubiquitinylierung die PLK1 von den Kinetochoren gelöst, aber nicht abgebaut [111].

Auch nach Trennung der Schwesterchromatiden in der Anaphase bleibt die Lokalisation der PLK1 in der Äquatorialebene der Zelle bestehen und interagiert dort mit verschiedenen Signalproteinen, die an der Zytokinese beteiligt sind [111]. Die Zytokinese beinhaltet einen Umbau des Zytoskeletts mit Bildung einer Mittelzone, die die separierten Schwesterchromatiden voneinander getrennt hält. Anschließend kommt es zur Bildung einer Teilungsfurche und schließlich zur Trennung der Tochterzellen [111]. Während ein Teil der Spindelfasern die Schwesterchromatiden zu den jeweiligen Zellpolen zieht, bleiben zwischen den Zellpolen aufgespannte Spindelfasern bestehen [116]. In deren Mitte, im Bereich der ehemaligen Metaphasenplatte, ist der sogenannte Zentralspindlin-Komplex für die Ausbildung der Teilungsfurche verantwortlich [111]. Der Zentralspindlin-Komplex besteht aus MKLP1 (*mitotic kinesin-like protein 1*), ECT2 (*epithelial cell transforming sequence 2*, RHO Guanin-Nukleotid Austauschfaktor) und RACGAP1 (RAC GTPase-aktivierendes Protein 1) [111, 117]. Die PLK1 phosphoryliert RACGAP1 und MKLP1, die daraufhin an ECT2 binden und infolgedessen das Signalprotein RhoA aktivieren [117]. RhoA wird für die Bildung eines kontraktilen Rings im Zytoskelett und damit der Teilungsfurche benötigt [117]. Ohne Aktivität der PLK1 schlägt die Rekrutierung von RhoA und seinen Effektormolekülen an der Teilungsfurche fehl, mit schweren Auswirkungen auf die Zytokinese [118].

Bis zum Abschluss der Telophase ist die PLK1-Aktivität im Bereich der Teilungsfurche nachweisbar, auch wenn schon in der Anaphase der Abbau von PLK1 in Proteasomen eingeleitet wird und mit einem kontinuierlichen Abfall der PLK1-Level verbunden ist [119]. Anschließend verharrt die Expression der PLK1 auf einem niedrigen Level bis zur Initiation der nächsten Mitose in der G2-Phase [108].

Durch die weitreichende Beteiligung der PLK1 an der Kontrolle des Zellzyklus spielt sie auch eine Rolle bei Anomalien der Zellteilung, etwa bei malignen Tumoren. Es hat sich gezeigt, dass die Expression von PLK1 in Tumoren erhöht ist und besonders hohe



Expressionslevel von PLK1 in verschiedenen Karzinomen, wie etwa dem Adenokarzinom der Lunge, mit einer schlechten klinischen Prognose assoziiert sind [108]. Auch bei Prostatakarzinomen ist die Expression von PLK1 erhöht und mit einem höheren Tumorgrad nach Gleason assoziiert [120].

### 2.5.2 PLK1 und glattmuskuläre Kontraktion

Während die weitreichende Beteiligung der PLK1 an der Regulation von Zellzyklus und Zytokinese bekannt ist, bleibt die Rolle in der Vermittlung von Kontraktion in glatter Muskulatur weitaus unklarer. Auch in nicht-proliferierendem Gewebe kann die Expression der PLK1 nachgewiesen werden [121].

Bisher veröffentlichte Studien haben die PLK1 im Zusammenhang mit der Kontraktion glatter Muskelzellen von Atemwegen (Li et al, 2016) und Blutgefäßen (de Cárcer et al, 2017) untersucht. Es zeigte sich, dass auch in nicht-proliferierendem Gewebe eine Expression der PLK1 nachgewiesen werden kann. Bei Knock-out Mäusen ohne PLK1-Aktivität war die glattmuskuläre Kontraktilität von Trachealringen signifikant verringert. Auch die Kontraktilität humaner Trachealringe mit Knock-Down von PLK1 war nach Stimulation mittels Acetylcholin im Organbad signifikant verringert gegenüber der Kontrollgruppe. [11, 121]

Für die Kontraktion glatter Muskulatur spielen unter anderem zwei Mechanismen eine wichtige Rolle: Die Aktivierung des Querbrückenzyklus durch Phosphorylierung der MLCK zur Kraftentwicklung und die intra- und interzelluläre Kraftweiterleitung mittels Zytoskelett [11, 16, 122]. Während die PLK1 offenbar keinen Einfluss auf die Aktivierung der MLCK hat, reguliert sie die Phosphorylierung von Vimentin an Ser-56 und nimmt darüber Einfluss auf das Zytoskelett und damit die glattmuskuläre Kontraktion [11]. Die Phosphorylierung von Vimentin an Ser-56 ermöglicht die Reorganisation des Vimentinnetzwerks [123]. Die Stimulation der Kontraktion mittels Acetylcholin bewirkt eine Phosphorylierung und damit Aktivierung der PLK1 an Thr-210,

ähnlich wie durch Wachstumsfaktoren im Zellzyklus [11, 124]. Außerdem führt die Stimulation mit Acetylcholin zur Ablösung der PBD vom katalytischen Zentrum und damit zur Aufhebung der Autoinhibition [11].

Für die glattmuskuläre Kontraktion von Blutgefäßen sowie die Aufrechterhaltung der physiologischen Struktur von Arterien scheint die PLK1 ebenfalls notwendig zu sein. De Carcer et al. (2017) beobachteten sowohl bei PLK1-Knockout-Mäusen als auch bei mit PLK1-Inhibitoren behandelten Mäusen Defekte der arteriellen Wandstruktur, die häufig zu Aortendilatation, Aortenruptur und Tod führten. In vivo zeigten sich Hypotension, reduzierte arterielle Elastizität und eine herabgesetzte Kontraktilität bei Stimulation mit Angiotensin II bei Mäusen mit Defekt der PLK1 in glatten Muskelzellen der Blutgefäße. Die beobachteten Veränderungen könnten, zumindest teilweise, von einer Beteiligung der PLK1 im RhoA-Signalweg und dynamischen Veränderungen des Zytoskeletts herrühren – ähnlich wie bei der Zytokinese während der Zellteilung. [121]

### 2.5.3 Inhibition der PLK1

Die PLK1 ist eine höchst integrative Kinase, deren Aktivität durch verschiedenste Aktivatoren und Inhibitoren beeinflusst werden kann [111]. Darüber hinaus hat die PLK1 die Fähigkeit zur Autoinhibition durch eine Blockade des katalytischen Zentrums mittels der PBD [119].

Durch die weitreichende Beteiligung der PLK1 im Zellzyklus und Überexpression in Tumoren stellt sie einen möglichen therapeutischen Angriffspunkt dar. Die Hemmung der Expression von PLK1 kann einerseits Apoptose einleiten und Krebszellen absterben lassen und andererseits die Wirkung von Chemotherapeutika und Radiotherapie verbessern [125-129]. Zur Inhibition der PLK1 kommen unterschiedliche Strategien in Betracht, unter anderem der Einsatz von Antikörpern, siRNA und direkte molekulare Inhibitoren der PLK1 [108, 130, 131]. Die Transfektion von Krebszellen

mit siRNA gegen PLK1 zeigt einen deutlichen antiproliferativen Effekt und eine Zunahme der Apoptoserate [125, 129, 132]. Auch die Injektion von anti-PLK1 Antikörpern beeinträchtigt die Fähigkeit von Zellen zur Zellteilung [131]. Trotzdem haben direkte molekulare Inhibitoren der PLK1 Vorteile im Hinblick auf Handhabung, Therapiesicherheit und Stabilität [108]. Bedingt durch ihren strukturellen Aufbau bietet die PLK1 zwei verschiedene Angriffspunkte für Inhibitoren: Die Kinasedomäne und die PBD [108].

In dieser Arbeit wurden vier PLK1-Inhibitoren verwendet, die ATP-kompetitiv die Kinasedomäne der PLK1 hemmen: SBE 13, Cyclapolin 9, Ro 3280 und Tak 960. Die meisten Inhibitoren zielen auf die aktive ATP-Bindungsstelle (Typ 1), während andere an benachbarte Strukturen binden und auf die inaktive Kinase zielen (Typ 2) [133]. Cyclapolin 9, Ro 3280 und Tak 960 gehören zu den ATP-kompetitiven Inhibitoren vom Typ 1 und hemmen selektiv die PLK1 [134-138]. SBE 13 ist ein PLK-Inhibitor Typ 2 und ebenfalls sehr selektiv für die PLK1, hemmt jedoch in höheren Konzentrationen auch die PLK2 und PLK3 [133, 134, 139].

Es existiert eine Reihe weiterer PLK1-Inhibitoren, die nicht in dieser Arbeit verwendet wurden. Auch wenn bislang kein PLK1-Inhibitor für den klinischen Einsatz zugelassen ist, befinden sich einige Wirkstoffe bereits in der fortgeschrittenen klinischen Erprobung. Ein Beispiel sind Volasertib und BI2536. Diese PLK1-Inhibitoren wirken unter anderem bei Prostatakarzinomen antiproliferativ und könnten, möglicherweise in Kombination mit anderen Wirkstoffen, einen zukünftigen Therapieansatz darstellen [140]. Der PLK1-Inhibitor Onvansertib konnte in vitro synergistische Effekte mit Taxanen in der Reduktion der Zellzahl von Stammzellen des triple-negativen Brustkrebs zeigen [141]. Onvansertib wurde auch in einem Folgeprojekt im Labor des Promovenden im Hinblick auf die glattmuskuläre Kontraktion der Prostata untersucht. Dabei zeigte sich eine signifikante Hemmung der  $\alpha_1$ -adrenergen und Endothelin-vermittelten Kontraktion der humanen Prostata. Dieser Effekt war additiv zur Wirkung von  $\alpha_1$ -

Blockern. Darüber hinaus wirkte Onvansertib antiproliferativ auf Stromazellen der Prostata in Zellkulturversuchen [142]. Derzeit finden klinische Studien der Phase 2 zum Einsatz von Onvansertib bei akuter myeloischer Leukämie, metastasierten Prostatakarzinomen und metastasierten kolorektalen Karzinomen statt. Synergistische Effekte von Onvansertib und etablierten Zytostatika könnten helfen, die Wirksamkeit zu verbessern. Möglicherweise kann auch die Verträglichkeit gesteigert werden, wenn durch synergistische Effekte eine Dosisreduktion der einzelnen Wirkstoffe möglich ist [141].

Die in der klinischen Erprobung von PLK1-Inhibitoren beobachteten Nebenwirkungen betreffen vorrangig Neutropenien, Thrombozytopenien und Anämien. In einer Phase-1-Studie des PLK1-Inhibitors GSK461364 trat eine hohe Rate (20 %) von venösen Thrombembolien auf. Außerdem wurde im Zusammenhang mit dem Einsatz von PLK1-Inhibitoren über nicht-hämatologische Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen, Haarausfall und Abgeschlagenheit berichtet. Onvansertib zeigte in einer Phase-1-Studie mit 21 Patienten (Weiss et al., 2018) bei Dosierungen bis 24 mg/m<sup>2</sup> pro Tag keine toxischen Effekte wie Neutropenien oder Thrombozytopenien, jedoch Nebenwirkungen wie Übelkeit, Elektrolytverschiebungen und erhöhte Leberenzymwerte. Bei höheren Dosierungen traten auch hämatotoxische Nebenwirkungen auf. Bislang sind nicht ausreichend Studien mit einem größeren Patientenkollektiv verfügbar, um die Wirksamkeit und Sicherheit von PLK1-Inhibitoren sicher zu beurteilen. [130, 141, 143-145]

### 3 Zielsetzung

Eine Inhibition der PLK1 hemmt die glattmuskuläre Kontraktion im Respirationstrakt und in Blutgefäßen [11, 121]. Auch in der humanen Prostata existiert glatte Muskulatur, die eine wichtige Rolle in der Pathogenese und medikamentösen Behandlung von LUTS im Rahmen des BPS spielt. Dabei führt ein erhöhter glattmuskulärer Tonus im Rahmen einer BPH häufig zu einer Verengung der Harnröhre und so zu Beeinträchtigungen der Blasenentleerung und den damit verbundenen Symptomen. Folglich ist die glattmuskuläre Kontraktion in der Prostata der Angriffspunkt für die wichtigsten Medikamente zur Behandlung BPH-bedingter LUTS. Deren Wirkung ist jedoch unzureichend. Ein verbessertes Verständnis der molekularen Grundlagen der glattmuskulären Kontraktion und der beschränkten Wirksamkeit der Medikamente, sowie die Identifizierung neuer Angriffspunkte ist daher wünschenswert.

Bisherige Untersuchungen von PLK1-Inhibitoren im Bereich der Prostata bezogen sich auf den Einsatz als Zytostatikum bei Prostatakarzinomen [140, 146, 147]. Entsprechend der Rolle für die glattmuskuläre Kontraktion in den Atemwegen und des kardiovaskulären Systems scheint es möglich, dass die PLK1 an der glattmuskulären Kontraktion in der Prostata beteiligt sein könnte.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Effekte von Inhibitoren der PLK1 auf die glattmuskuläre Kontraktion von nicht maligne verändertem, humanen Prostatagewebe untersucht. Es sollte geklärt werden, ob Inhibitoren der PLK1 die neurogene,  $\alpha_1$ -adrenerge, ET-1- oder TXA<sub>2</sub>-vermittelte Kontraktion hemmen.

Um die tatsächliche Beteiligung der PLK1 so weit wie möglich zu validieren, wurden verschiedene kontraktile Stimuli sowie verschiedene, strukturell unterschiedliche PLK1-Hemmstoffe untersucht. Somit ergaben sich mehrere Versuchsreihen mit unterschiedlichen Inhibitor/Agonist-Kombination, trotz identischer Zielstrukturen.

Im Einzelnen sollten folgende Fragestellungen beantwortet werden:

1. Hemmen die PLK1-Inhibitoren SBE 13, Cyclapolin 9, Tak 960 und Ro 3280 die neurogene Kontraktion humanen Prostatagewebes?
2. Hemmen die PLK1-Inhibitoren SBE 13 und Cyclapolin 9 die  $\alpha_1$ -adrenerge Kontraktion der humanen Prostata, ausgelöst durch Noradrenalin, Phenylephrin und Methoxamin?
3. Hemmen die PLK1-Inhibitoren SBE 13 und Cyclapolin 9 die Thromboxan- $A_2$ -induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes?
4. Hemmen die PLK1-Inhibitoren SBE 13 und Cyclapolin 9 die Endothelin-1-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes?

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Geräte und Versuchsaufbau

Die myographischen Messungen wurden in einem Organbad des Herstellers Danish Myo Technologies (Hinnerup, Dänemark; Modellbezeichnung: DMT 720M) vorgenommen. Die Organbadapparatur verfügt über vier Kammern mit je 10 ml Fassungsvermögen, in denen sich die Gewebeproben während der Experimente in Krebs-Henseleit-Lösung befanden. Jede Kammer besitzt zwei Nadeln, zwischen denen die Gewebeproben aufgespannt werden. Eine Nadel ist dabei mit einer Stellschraube verbunden, mittels derer die Vorspannung manuell verändert werden kann. Die andere Nadel ist mit einem Kraftaufnehmer verbunden, der die durch die isometrische Kontraktion der Gewebeprobe verursachte Kraft misst (Einheit: mN). Das analoge Signal der Kraftaufnehmer wurde über ein Interface (Hersteller: AD Instruments, Modellbezeichnung: PowerLab ML870) digitalisiert und an einen Computer übermittelt, auf dem die kontinuierliche Aufzeichnung erfolgte. Zur Aufzeichnung, Monitoring und Auswertung wurde die Software LabChart (AD Instruments) verwendet (vgl. Abb.1). Über die gesamte Dauer eines Experiments waren die Kammern des Organbads mit Krebs-Henseleit-Lösung gefüllt. Die Organbadkammern wurden durch eine elektrische Heizung auf eine Temperatur von 37°C erwärmt und kontinuierlich mit Carbogen (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) begast. Der enthaltene Sauerstoff versorgte das Gewebe, während das CO<sub>2</sub> den pH-Wert der Lösung konstant hielt.

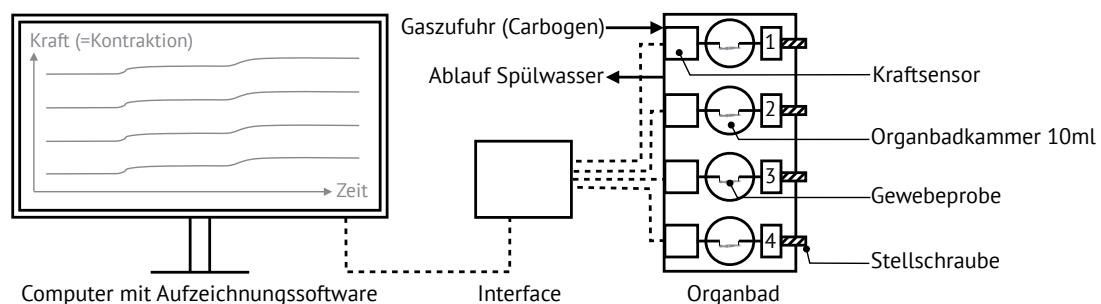


Abbildung 1: Skizze Versuchsaufbau.

## 4.2 Gewebeproben

Die myographischen Messungen zur Kontraktilität der glatten Muskulatur der Prostata wurden an frischen Gewebeproben durchgeführt, die im Rahmen von tumorbedingten, radikalen Prostatektomien bei Patienten mit Prostatakarzinomen gewonnen wurden. Ausschlusskriterien für die Verwendung einer Gewebeprobe waren zum einen eine vorausgegangene TURP aufgrund der dadurch bedingten Entfernung des transurethralen Gewebes der Prostata und zum anderen bekannte Infektionskrankheiten des Patienten, wie HIV oder Hepatitis, zum Infektionsschutz des Laborpersonals. Sofern eine roboterassistierte Prostatektomie mittels des daVinci®-Verfahrens erfolgte, wurde durch die veränderten Umstände und lange OP-Dauer ebenfalls auf eine Frischgewebsentnahme verzichtet.

Unmittelbar nach Organentnahme wurde im Operationssaal das entnommene Organ in Perfusionslösung (Custodiol®) eingelegt und in das Pathologische Institut des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) am Standort Großhadern transportiert. Anschließend erfolgte im Zuschnitt des pathologischen Instituts die Frischgewebsentnahme durch ärztliche Mitarbeiter der Pathologie. Da die Entwicklung der BPH von der periurethralen Zone der Prostata ausgeht, wurden die Gewebeproben in diesem Bereich entnommen [65, 66]. Zuvor erfolgte eine makroskopische Untersuchung durch die Pathologen, um eine Entnahme von entartetem Gewebe weitgehend auszuschließen und eine vollständige histologische Aufarbeitung des Tumorgewebes zu ermöglichen. Da sich Prostatakarzinome vorrangig in der peripheren Zone entwickeln, war in allen Fällen eine Gewebeentnahme für Versuchszwecke möglich [148, 149]. Zum Transport in das Labor wurden die Gewebeproben wiederum in Perfusionslösung aufbewahrt und anschließend für die myographischen Untersuchungen im Organbad auf eine passende Größe (ca. 6x3x3 mm) zurechtgeschnitten. Die Gewebeproben wurden anonymisiert untersucht und es wurden keine patientenbezogenen Daten im Zusammenhang mit dieser Studie erhoben oder ausgewertet.



### 4.3 Versuchsdurchführung

Pro Experiment wurde Gewebe aus einer Prostata auf die vier Organbadkammern eines Gerätes aufgeteilt. Dabei dienten je zwei Kammern als Inhibitor- und Kontrollgruppe.

#### Vorbereitung und Vorspannen der Gewebeproben

In Vorbereitung der Experimente wurden die Organbadkammern drei Mal mit 10 ml Krebs-Henseleit-Lösung gespült, wieder mit 10 ml befüllt, mit Carbogen begast und auf 37°C vorgeheizt. Nach Eintreffen und Zuschneiden der Gewebeproben wurden diese in den Organbadkammern durch Aufspießen auf die Nadeln spannungsfrei aufgespannt. Anschließend wurden die Kraftmessung tariert und die Experimente gestartet. Zunächst erfolgte die sogenannte Äquilibrationsphase. Dabei soll durch Drehen an den Stellschrauben eine passive Vorspannung der Gewebeproben von 4,90 mN bis 5,00 mN erreicht werden. Da der Tonus der Gewebeproben anfangs jedoch passiv abfällt, wurde die Spannung alle 15 Minuten über die Stellschraube korrigiert. Nach etwa 45 Minuten wurde eine stabile, passive Vorspannung von 4,90 mN bis 5,00 mN erreicht. Sobald der Tonus stabil war, wurde der genaue Ausgangswert der Gewebespannung (*base 1*) in mN abgelesen (vgl. Abb. 2).

#### Kaliumchlorid-induzierte Kontraktion

Um eine standardisierte, rezeptorunabhängige Kontraktion auszulösen, wurden nach Abschluss der Äquilibrationsphase in jede Organbadkammer 400 µl einer zweimolaren Kaliumchloridlösung (KCl) pipettiert (finale Konzentration im Organbad: 80 mM). Diese Kontraktion fand noch vor Aufteilung der Organbadkammern in Inhibitor- und Kontrollgruppe statt und diente als Vergleichswert für die anschließenden Versuche. Die maximale KCl-induzierte Kontraktion wurde in der Auswertung der Experimente genutzt, um die später ausgelöste rezeptorvermittelte Kontraktion prozentual im Vergleich zur KCl-induzierten Kontraktion anzugeben. Dieses Vorgehen ermöglicht den

Vergleich von Inhibitor- und Kontrollgruppen unabhängig von Unterschieden in der Beschaffenheit der Gewebeproben. Bedingt durch die Heterogenität des Prostatagewebes und schwankende Anteile von Stroma, glatter Muskulatur und Drüsengewebe ist die absolute Kontraktionsfähigkeit der Gewebeproben natürlicherweise unterschiedlich. Außerdem war es durch Knoten im Gewebe nicht immer möglich, Gewebeproben von gleicher Größe und Form zuzuschneiden. Die Vergleichbarkeit der einzelnen Gewebeproben innerhalb der Versuche wurde daher erst durch die vorgeschaltete Kontraktion mit KCl erreicht, die als Referenz für die folgenden Kontraktionen diente.

Nach maximaler KCl-induzierter Kontraktion und Erreichen der Plateauphase wurde die gemessene Kraft abgelesen und die Organbadkammern drei Mal mit Krebs-Henseleit-Lösung gespült, um das Kaliumchlorid aus den Kammern auszuschwemmen. Sofern eine Gewebeprobe keine oder nur eine äußerst geringe Kontraktion aufwies, wurde diese verworfen und nicht weiter in die folgenden Experimente einbezogen.

Auslöser der KCl-induzierten Kontraktion ist die Depolarisation der Zellmembran. Physiologischerweise wird das Ruhemembranpotential einer Zelle durch eine unterschiedliche intra- und extrazelluläre Verteilung von Ionen aufgebaut. Durch die selektive Permeabilität der Zellmembran, die Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase und andere Einflüsse kommt es zu einer intrazellulär höheren Konzentration von Kaliumionen als extrazellulär, in dem Fall die Krebs-Henseleit-Lösung in den Organbadkammern. Gleichzeitig ist die zytosolische Konzentration an Calciumionen sehr gering. Aktive Transportmechanismen, die Calcium nach extrazellulär oder in intrazelluläre Calciumspeicher transportieren, bauen einen steilen Konzentrationsgradienten auf. Durch die Applikation von 400 µl zweimolarer Kaliumchloridlösung steigt die Kaliumkonzentration im Organbad rapide an. Dadurch depolarisiert die Zellmembran, spannungsabhängige Calciumkanäle öffnen sich und Calciumionen ( $\text{Ca}^{2+}$ ) strömen in das Zellplasma. Eine Erhöhung der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration auf über  $10^{-7}$  mol/l

führt durch die Bindung von Calciumionen an Calmodulin zur Aktivierung der Myosin-leichte-Ketten-Kinase. Diese wiederum phosphoryliert die regulatorischen leichten Myosinketten. Anschließend durchläuft das Myosin den Querbrückenzyklus und die glatte Muskulatur kontrahiert. [16]

#### Inkubationszeit und Erstellen der Konzentrations-/Frequenz-Wirkungs-Kurven

Nach Ausschwemmen des KCl fiel durch Relaxation der glatten Muskulatur die aufgezeichnete isometrische Kraft ab und bildete nach etwa zehn Minuten erneut eine konstante Basislinie. Zu diesem Zeitpunkt wurden willkürlich je zwei Organbadkammern dem Inhibitor und der Kontrollgruppe zugeteilt. Der in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöste Inhibitor wurde in die jeweiligen Kammern gegeben. Die der Kontrollgruppe zugehörigen Organbadkammern erhielten die gleiche Menge DMSO, jedoch keinen Inhibitor.

Daraufhin folgte die 30-minütige Inkubationsphase. Nach Abschluss der Inkubationszeit wurde erneut der Ausgangswert der Gewebespannung (*base 2*) abgelesen. Anschließend wurden sowohl in den Organbadkammern der Inhibitorgruppe als auch der Kontrollgruppe zeitgleich die Messungen zur Kontraktilität mit einem Agonisten oder Elektrischer Feldstimulation (EFS) gestartet. Sobald der Kontraktionsverlauf ein Plateau erreicht hatte, erfolgte die Applikation der nächsthöheren Konzentration des Agonisten beziehungsweise die Verdopplung der Frequenz bei EFS (siehe Abb. 2). Nachdem auch in der höchsten Konzentration beziehungsweise Frequenz keine weitere Kontraktion mehr zu verzeichnen war, wurde das Experiment beendet und die Gewebeproben wurden nicht weiterverwendet.

Für die Inhibitoren SBE 13 und Cyclopamin 9 wurden Versuchsreihen mit den Agonisten Noradrenalin, Phenylephrin, Methoxamin, U46619, ET-1 und EFS erstellt. Für Tak 960 und Ro 3280 wurden Versuchsreihen mit EFS durchgeführt.

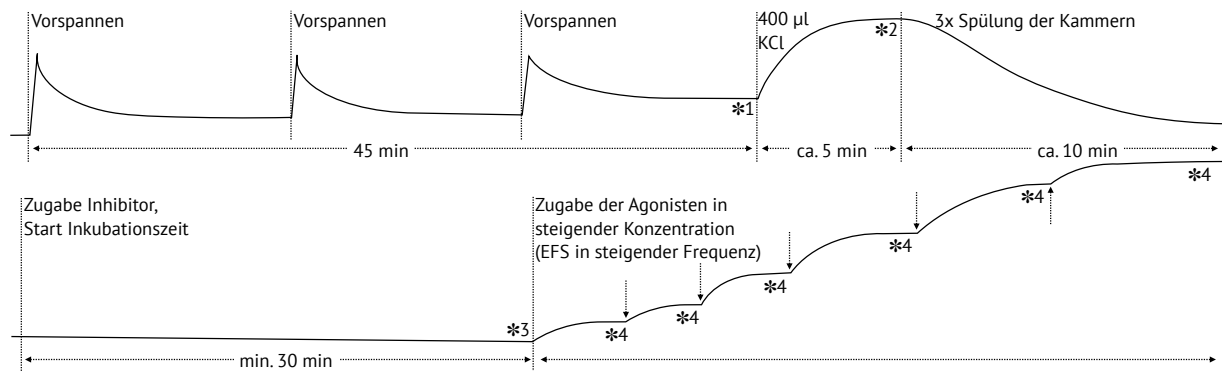


Abbildung 2: Schematischer Kontraktionsverlauf (nicht maßstabsgetreu). Zur Auswertung wurde zu folgenden Zeitpunkten die Kontraktionsstärke abgelesen: \*1: Base 1, \*2: maximale KCl-induzierte Kontraktion, \*3: Base 2, \*4: die jeweils maximale Kontraktion nach Zugabe der Agonisten in steigender Konzentration bzw. EFS in steigender Frequenz

## 4.4 Lösungen und Puffer

### Custodiol®-Lösung

Organprotektive Custodiol®-Perfusionslösung enthält eine Mischung aus Aminosäuren und Elektrolyten und wird zur Konservierung und zum Schutz von Organen während der extrakorporalen Aufbewahrung, beispielsweise bei Transplantaten, verwendet. In Vorbereitung der Experimente wurden vor Beginn der Prostataktomien Gläser mit Custodiol®-Lösung an das OP-Personal übergeben. In dieser Flüssigkeit erfolgte sowohl der Transport der entnommenen Organe vom OP-Saal bis zur Gewebeentnahme im Pathologischen Institut als auch der Transport der Gewebeproben weiter zum urologischen Forschungslabor. Der finale Zuschnitt der Gewebeproben auf die passende Größe für die Experimente im Organbad fand ebenfalls in einer mit Custodiol® gefüllten Schale statt, um die Vitalität des Gewebes bestmöglich zu erhalten. Es wurde Custodiol®-Lösung von der Dr. Franz Köhler Chemie GmbH (Bensheim) verwendet. Die Zusammensetzung ist in Tab. 1 angegeben.

Tabelle 1: Zusammensetzung Custodiol®-Lösung pro 1000 ml.

Bestandteil		Stoffmengenkon- zentration (mM)
Natriumchlorid	0,8766 g	15,0
Kaliumchlorid	0,6710 g	9,0
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	0,8132 g	4,0
L-Histidinhydrochlorid-Monohydrat	3,7733 g	18,0
L-Histidin	27,9289 g	180,0
Tryptophan	0,4085 g	2,0
Mannitol	5,4651 g	30,0
Calciumchlorid-Dihydrat	0,0022 g	0,015
2-Oxoglutarsäure	0,1460 g	1,0
Demineralisiertes Wasser	ad 1000 ml	

### Krebs-Henseleit-Lösung

Für die Versuche im Organbad befanden sich die Gewebeproben in Krebs-Henseleit-Lösung, die an den Versuchstagen aus zwei Stammlösungen angesetzt wurde. Zunächst wurden 1000 ml demineralisiertes Wasser mit 43,5 ml Stammlösung 1 (siehe Tab. 2) und 1,63 g Glucose für 30 Minuten mit Carbogen begast und im Wasserbad auf 37°C erwärmt. Danach wurden 43,5 ml Stammlösung 2 (siehe Tab. 3) zugesetzt und die fertige Krebs-Henseleit-Lösung (siehe Tab. 4) wiederum für fünf Minuten mit Carbogen begast. Anschließend wurde die gebrauchsfertige Lösung weiterhin konstant begast und bei 37°C für die Verwendung im Organbad bereitgehalten.

Die Stammlösungen wurden alle zwei Wochen neu angesetzt.

Tabelle 2: Zusammensetzung Krebs-Henseleit-Stammlösung 1 (KH-1) pro 1000 ml.

Bestandteil	
Natriumchlorid	172,4 g
Kaliumchlorid	8,8 g
Calciumchlorid-Dihydrat	9,2 g
Kaliumdihydrogenphosphat	4,1 g
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	7,4 g
Demineralisiertes Wasser	ad 1000 ml

Tabelle 3: Zusammensetzung Krebs-Henseleit-Stammlösung 2 (KH-2) pro 1000 ml.

Bestandteil	
Natriumhydrogencarbonat	32,5 g
Demineralisiertes Wasser	ad 1000 ml

Tabelle 4: Zusammensetzung finale KREBS-HENSELEIT-Lösung pro 1000 ml.

Bestandteil		Stoffmengenkon- zentration (mM)
Natriumchlorid	6,899 g	118,05
Kaliumchlorid	0,352 g	4,72
Calciumchlorid-Dihydrat	0,368 g	2,50
Kaliumdihydrogenphosphat	0,164 g	1,21
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	0,296 g	1,20
Natriumhydrogencarbonat	1,300 g	15,48
Glucose	1,499 g	8,32
Demineralisiertes Wasser	ad 1000 ml	

## Kaliumchlorid-Lösung

Tabelle 5: Zusammensetzung der KCl-Lösung (2 mM) pro 1000 ml.

Bestandteil		Stoffmengenkon- zentration (mM)
Kaliumchlorid	149,1 g	2
Demineralisiertes Wasser	Ad 1000 ml	

Die KCl-Lösung wurde alle vier Wochen neu angesetzt.

Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Reagenzien und Ausgangssubstanzen von Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Taufkirchen, Deutschland) bezogen.

### 4.5 Inhibitoren

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden vier Inhibitoren der PLK1 verwendet. Es handelte sich um SBE 13, Cyclapolin 9, Tak 960 und Ro 2380. Die gewählte finale Konzentration des Inhibitors im Organbad orientierte sich an den IC<sub>50</sub>-Werten des jeweiligen Inhibitors. Die finale Konzentration bezeichnet die Konzentration des Inhibitors in einer Organbadkammer mit 10 ml Krebs-Henseleit-Lösung. Grundannahme war eine gleichmäßige Verteilung des Inhibitors im Organbad und den Gewebeproben im Organbad.

Als Lösungsmittel kam in allen Fällen DMSO zum Einsatz. Das benötigte Volumen berechnete sich dabei wie folgt:

$$\text{Volumen DMSO} = \frac{\frac{\text{eingewogene Masse Inhibitor}}{\text{molare Masse Inhibitor}}}{\text{Konzentration Stammlösung}}$$

#### 4.5.1 SBE 13

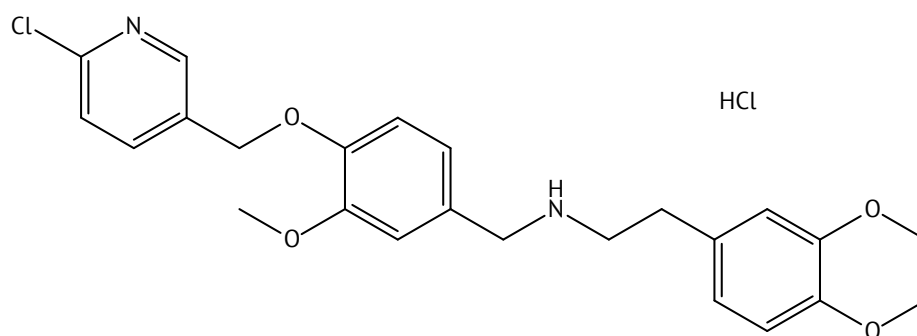


Abbildung 3: Strukturformel SBE 13 Hydrochlorid.

Chemische Bezeichnung: N-[[4-[(6-Chloro-3-pyridinyl)methoxy]-3-methoxyphenyl]methyl]-3,4-dimethoxybenzeneethanamine hydrochloride

Summenformel:  $C_{24}H_{27}ClN_2O_4$  HCl

CAS-Nr.: 1052532-15-6

Molare Masse: 479,4 g/mol

Bezugsquelle: Tocris Cookson Ltd.; Bristol, Vereinigtes Königreich

Reinheit: > 99%

$IC_{50}$  für PLK1: 200 pM [139]

Verwendetes Lösungsmittel: DMSO

Konzentration Stammlösung: 1 mM

Appliziertes Volumen: 10  $\mu$ l

Finale Konzentration: 1  $\mu$ M

#### 4.5.2 Cyclapolin 9

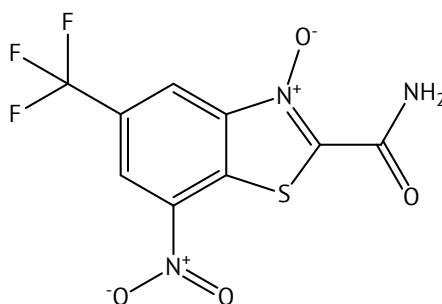


Abbildung 4: Strukturformel Cyclapolin 9.



Chemische Bezeichnung: 7-Nitro-5-(trifluoromethyl)-2-benzothiazolecarboxamide-3-oxide

Summenformel:  $C_9H_4F_3N_3O_4S$

CAS-Nr.: 40533-25-3

Molare Masse: 307,21 g/mol

Bezugsquelle: Tocris Cookson Ltd.; Bristol, Vereinigtes Königreich

Reinheit: > 98%

IC<sub>50</sub> für PLK1: 500 nM [136]

Verwendetes Lösungsmittel: DMSO

Konzentration Stammlösung : 1 mM

Appliziertes Volumen: 30 µl

Finale Konzentration: 3 µM

#### 4.5.3 TAK 960

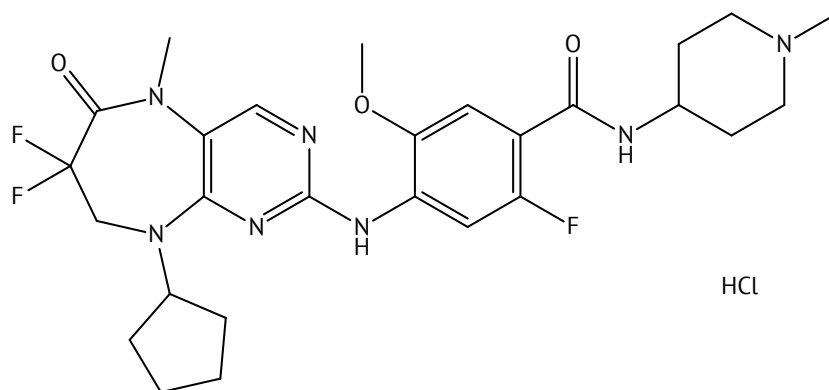


Abbildung 5: Strukturformel TAK 960 Hydrochlorid.

Chemische Bezeichnung: 4-[(9-Cyclopentyl-7,7-difluoro-6,7,8,9-tetrahydro-5-methyl-6-oxo-5H-pyrimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-yl)amino]-2-fluoro-5-methoxy-N-(1-methyl-4-piperidinyl)benzamide hydrochloride

Summenformel:  $C_{27}H_{34}F_3N_7O_3$  HCl

CAS-Nr.: 1137868-96-2

Molare Masse: 598,06 g/mol

Bezugsquelle: Tocris Cookson Ltd.; Bristol, Vereinigtes Königreich

Reinheit: > 98%

IC<sub>50</sub> für PLK1: 800 pM [135]

Verwendetes Lösungsmittel: DMSO

Konzentration Stammlösung: 0,1 mM

Appliziertes Volumen: 10 µl

Finale Konzentration: 100 nM

#### 4.5.4 Ro 3280

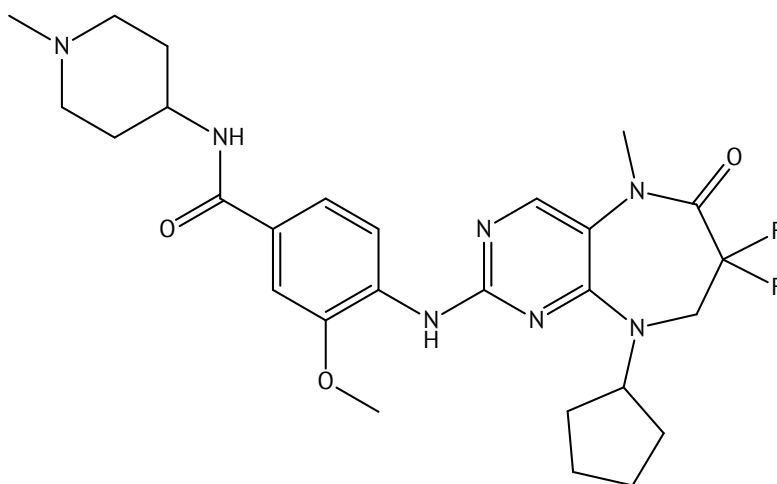


Abbildung 6: Strukturformel Ro 3280.

Chemische Bezeichnung: 4-[(9-Cyclopentyl-7,7-difluoro-6,7,8,9-tetrahydro-5-methyl-6-oxo-5H-pyrimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-yl)amino]-3-methoxy-N-(1-methyl-4-piperidinyl)benzamide

Summenformel: C<sub>27</sub>H<sub>35</sub>F<sub>2</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>

CAS-Nr.: 1062243-51-9

Molare Masse: 543,61 g/mol

Bezugsquelle: Tocris Cookson Ltd.; Bristol, Vereinigtes Königreich

Reinheit: > 98%

IC<sub>50</sub> für PLK1: 3 nM [137]

Verwendetes Lösungsmittel: DMSO

Konzentration Stammlösung: 0,1 mM

Appliziertes Volumen: 10 µl

Finale Konzentration: 100 nM

## 4.6 Agonisten

### 4.6.1 Noradrenalin, Phenylephrin und Methoxamin

Die adrenerge Kontraktion wurde durch die Zugabe der exogenen Rezeptoragonisten Noradrenalin (Abb. 7), Phenylephrin (Abb. 8) und Methoxamin (Abb. 9) untersucht. Für alle drei Substanzen wurden separate Versuchsreihen mit den Inhibitoren SBE 13 Hydrochlorid und Cyclopamin 9 erstellt. Noradrenalin bindet an  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ - und  $\beta$ -Adrenozeptoren; Phenylephrin und Methoxamin hingegen sind selektive  $\alpha_1$ -Adrenozeptoragonisten.

Die 10 mM Stammlösungen der Agonisten wurden am Tag der Verwendung im Organbad frisch angesetzt. Als Lösungsmittel kam in allen Fällen demineralisiertes Wasser zum Einsatz. Die benötigte Menge Lösungsmittel für eine 10 mM Stammlösung wurde wie folgt berechnet:

$$\text{Volumen Wasser} = \frac{\frac{\text{eingewogene Masse Agonist}}{\text{molare Masse Agonist}}}{\text{Konzentration Stammlösung}}$$

Über eine zweistufige Verdünnungsreihe wurden die 10 mM Stammlösungen anschließend auf 1 mM sowie 0,1 mM verdünnt und bis zur Anwendung bei 4 °C gelagert. Die Lösungen wurden nach Beendigung der Inkubationszeit gemäß Applikationsschema in Tabelle 6 in die Organbadkammern appliziert.

## Noradrenalin

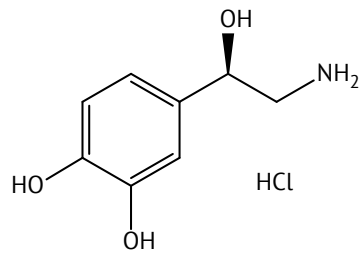


Abbildung 7: Strukturformel L-Norepinephrin Hydrochlorid (Noradrenalin).

Summenformel:  $C_8H_{11}NO_3 \text{ HCl}$

CAS-Nr.: 329-56-6

Molare Masse: 205.64 g/mol

Bezugsquelle: Sigma-Aldrich Chemie GmbH; Taufkirchen, Deutschland

## Phenylephrin

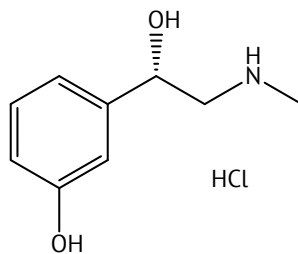


Abbildung 8: Strukturformel (R)-(-)-Phenylephrin Hydrochlorid (Phenylephrin).

Summenformel:  $C_9H_{14}ClNO_2$

CAS-Nr.: 61-67-7

Molare Masse: 203.67

Bezugsquelle: Sigma-Aldrich Chemie GmbH; Taufkirchen, Deutschland

## Methoxamin

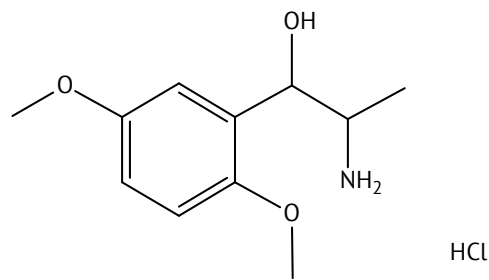


Abbildung 9: Strukturformel Methoxamin Hydrochlorid (Methoxamin).

Summenformel:  $C_{11}H_{17}NO_3$  HCl

CAS-Nr.: 61-16-5

Molare Masse: 247,72 g/mol

Bezugsquelle: Sigma-Aldrich Chemie GmbH; Taufkirchen, Deutschland

Tabelle 6: Applikationsschema für Noradrenalin, Phenylephrin und Methoxamin.

Konzentration Stammlösung (mM)	Appliziertes Volumen pro Organbadkammer (µl)	Finale Konzentration (kumuliert) (µM)
0,1	10	0,1
0,1	20	0,3
1	7	1
1	20	3
10	7	10
10	20	30
10	70	100

#### 4.6.2 U46619

Bei U46619 (Abb. 10) handelt es sich um ein synthetisches TXA<sub>2</sub>-Analogon. Da die Halbwertszeit von Thromboxan-A<sub>2</sub> sehr gering ist, wurde U46619 als stabiler TXA<sub>2</sub>-Rezeptor-Agonist verwendet.

Als Lösungsmittel zur Herstellung einer 10 mM Stammlösung wurde Ethanol verwendet. Die benötigte Menge Lösungsmittel wurde wie folgt berechnet:

$$\text{Volumen Ethanol} = \frac{\frac{\text{eingewogene Masse U46619}}{\text{molare Masse U46619}}}{\text{Konzentration Stammlösung}}$$

Anschließend wurden mittels einer zweistufigen Verdünnungsreihe 1 mM und 0,1 mM Stammlösungen erstellt und bis zum Einsatz bei -20 °C aufbewahrt. Das Applikationsschema ist in Tab. 7 angegeben.

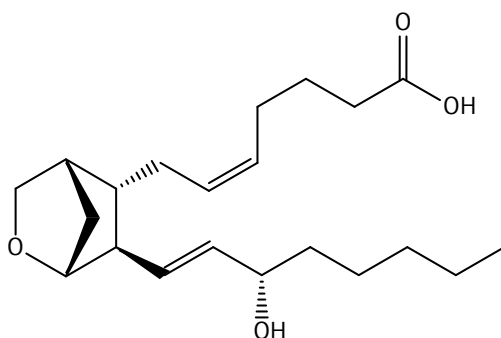


Abbildung 10: Strukturformel U46619

Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>

CAS-Nr.: 56985-40-1

Molare Masse: 350,5 g/mol

Bezugsquelle: Tocris Cookson Ltd.; Bristol, Vereinigtes Königreich

Tabelle 7: Applikationsschema U46619

Konzentration Stammlösung (mM)	Appliziertes Volumen pro Organbadkammer (µl)	Finale Konzentration (kumuliert) (µM)
0,1	10	0,1
0,1	20	0,3
1	7	1
1	20	3
10	7	10
10	20	30

#### 4.6.3 Endothelin-1

In der Prostata werden sowohl ET<sub>A</sub>-als auch ET<sub>B</sub>-Rezeptoren exprimiert. ET-1, -2 und -3 unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Affinität zu den Rezeptoren. Während alle ET-Isoformen die gleiche Affinität zu ET<sub>B</sub> besitzen, zeigt ET-3 eine deutlich geringere Affinität zu ET<sub>A</sub> als ET-1 und ET-2. [150]

In dieser Arbeit wurde ET-1 (Abb. 11) verwendet. Es wurde eine 0,4 mM Stammlösung aus 1 mg ET-1 in 1,003 ml demineralisiertem Wasser angesetzt und gemäß Applikationsschema in Tab. 8 appliziert.

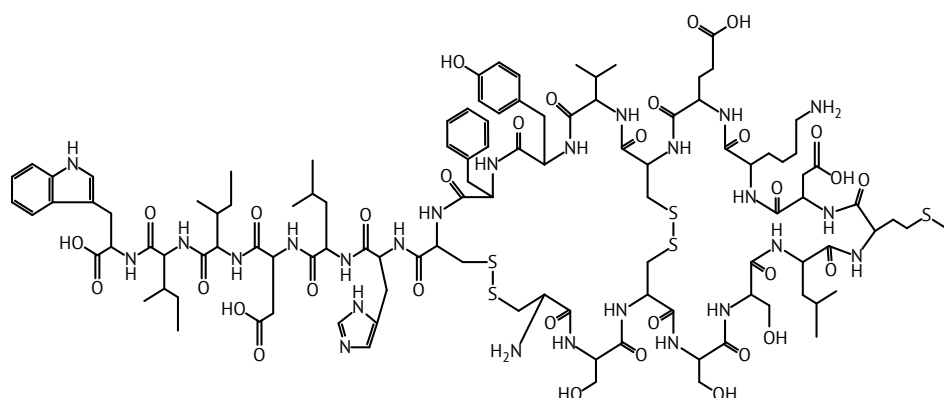


Abbildung 11: Strukturformel ET-1

Summenformel:  $C_{109}H_{159}O_{32}N_{25}S_5$

CAS-Nr.: 117399-94-7

Molare Masse: 2492 g/mol

Bezugsquelle: Tocris Cookson Ltd.; Bristol, Vereinigtes Königreich

Tabelle 8: Applikationsschema ET-1

Konzentration Stammlösung (mM)	Appliziertes Volumen pro Organbadkammer (µl)	Finale Konzentration (kumuliert) (µM)
0,4	2,5	0,1
0,4	5,0	0,3
0,4	17,5	1
0,4	50,0	3

#### 4.6.4 Elektrische Feldstimulation (EFS)

Mittels EFS werden Aktionspotentiale simuliert, die über eine Ausschüttung endogener Neurotransmitter zu einer Kontraktion der Gewebepräparate führt. Für die Versuchsreihen mit EFS wurde nach Befestigung der Gewebeproben eine Halterung mit zwei Elektroden auf die Organbadkammern gesetzt. Somit befand sich das jeweilige Gewebepräparat zwischen den Elektroden, berührte diese jedoch nicht. Als Stimulator wurde ein Gerät der Firma Danish Myo Technologies (Hinnerup, Dänemark; Modellbezeichnung: DMT CS4) verwendet.

Spannung: 20 V

Stimulus: positiv monopolar

Frequenzen: 2 Hz; 4 Hz; 8 Hz; 16 Hz; 32 Hz;



## 4.7 Auswertung und statistische Methoden

Zur Auswertung der Experimente wurde die Kontraktionsstärke in allen Organbadkammern zu folgenden Zeitpunkten in den mittels LabChart aufgezeichneten Daten abgelesen (vgl. Abb. 1):

- Base 1 nach Abschluss der Äquilibrationsphase vor Zugabe von KCl.
- Die maximale KCl-induzierte Kontraktion.
- Base 2 nach Abschluss der Inkubationsphase.
- Die jeweils maximale Kontraktion für jede Konzentration der Agonisten beziehungsweise jede Frequenz bei EFS.

Um die ausgelösten Kontraktionen einer Gewebeprobe im Verhältnis zur jeweiligen KCl-induzierten Kontraktion anzugeben, wurde von allen Kontraktionsmesswerten der vorausgegangene Base-Wert subtrahiert. Base 1 diente als Ausgangswert der Vorspannung für die folgende KCl-induzierte Kontraktion. Base 2 wurde als Ausgangswert für die Agonisten- beziehungsweise EFS-induzierte Kontraktion verwendet. Anschließend wurden alle Agonist- beziehungsweise EFS-induzierten Kontraktionen in Relation zur KCl-induzierten Kontraktion derselben Gewebeprobe gesetzt.

Die Berechnung und grafische Aufbereitung der in Kapitel 6 dargestellten Ergebnisse erfolgte mit Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, USA). In jeder Versuchsreihe wurden für die Inhibitor- und Kontrollgruppe die Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung der Agonisten- oder EFS-vermittelten Kontraktionen berechnet. Zudem wurden die Daten als Konzentrations-Wirkungs-Kurven beziehungsweise Frequenz-Wirkungs-Kurven grafisch dargestellt. Zur Beurteilung der statistischen Signifikanz wurden die Ergebnisse einer Varianzanalyse unterzogen. Als Varianzanalyseverfahren wurde eine ANOVA (analysis of variance) eingesetzt. Die ANOVA untersucht, ob die Varianz zwischen der Inhibitor- und Kontrollgruppe größer ist als die Varianz innerhalb der Gruppen und erlaubt somit eine Einschätzung, ob sich die

Gruppen signifikant unterscheiden. Die Varianzanalyse wurde mit IBM SPSS Statistics Version 25 (IBM Corporation, Armonk, USA) durchgeführt. Dabei wurden die Ergebnisse der Inhibitorgruppe mit der Kontrollgruppe aus jeder Versuchsreihe im Hinblick auf die Zielvariable Kontraktionsstärke verglichen. Dies geschah sowohl für die einzelnen Konzentrationen der Agonisten beziehungsweise Frequenzen bei EFS als auch für die gesamte Versuchsreihe (*group*). Als Signifikanzniveau wurde  $\alpha=0,05$  festgelegt. Bei p-Werten von unter 0,05 wurde von einem statistisch signifikanten Unterschied zwischen Inhibitor- und Kontrollgruppe ausgegangen.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Effekte von SBE 13

#### 5.1.1 Noradrenalin-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von zehn Patienten (n=10) wurde der Einfluss von SBE 13 auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von SBE 13 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit Noradrenalin (0,1-100  $\mu\text{M}$ ) konzentrationsabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 12, Tab. 9). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von SBE 13 zu einer signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe (siehe Tab. 10).

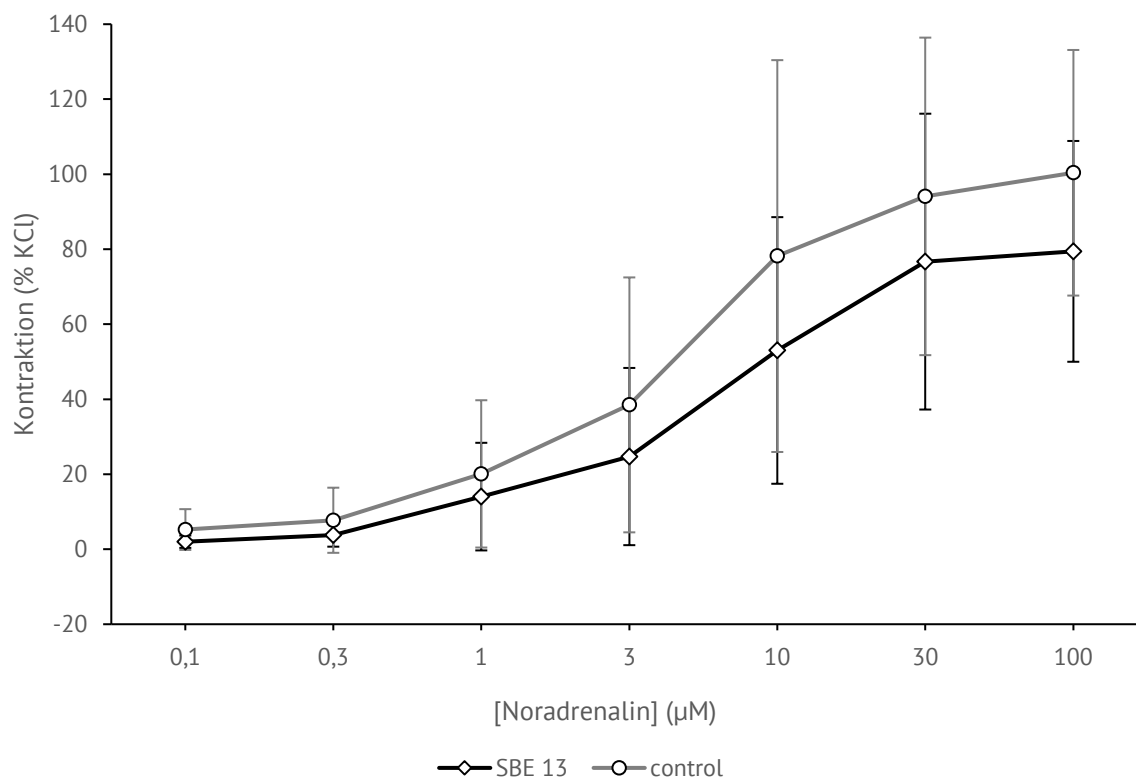


Abbildung 12: Effekt von SBE 13 auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (SBE 13) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=10 Patienten.

Tabelle 9: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + Noradrenalin in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

Noradrenalin Stoffmen- genkonzentration ( $\mu\text{M}$ )	SBE 13 (% der KCl-indu- zierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontrak- tion)
0,1	2	5
0,3	4	8
1	14	20
3	25	38
10	53	78
30	77	94
100	79	100

Die statistische Auswertung zeigt, dass für die einzelnen Konzentrationen keine signifikante Hemmung durch SBE 13 vorliegt. Jedoch liegt im Gruppenvergleich (*group*) Inhibitorgruppe versus Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied vor (siehe Tab. 10).

Tabelle 10: Varianzanalyse SBE 13 + Noradrenalin. Bei Unterschreiten des Signifikanzniveaus von  $\alpha=0,05$  sind die entsprechenden Werte mit \* gekennzeichnet.

Noradrenalin Stoffmengenkonzen- tration ( $\mu\text{M}$ )	p-Werte ANOVA
0,1	0,802
0,3	0,76
1	0,64
3	0,289
10	0,054
30	0,181
100	0,108
<i>group</i>	0,009*

### 5.1.2 Phenylephrin-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von acht Patienten (n=8) wurde der Einfluss von SBE 13 auf die Phenylephrin-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von SBE 13 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit Phenylephrin (0,1-100  $\mu\text{M}$ ) konzentrationsabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangenen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 13, Tab. 11). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von SBE 13 zu einer signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe.

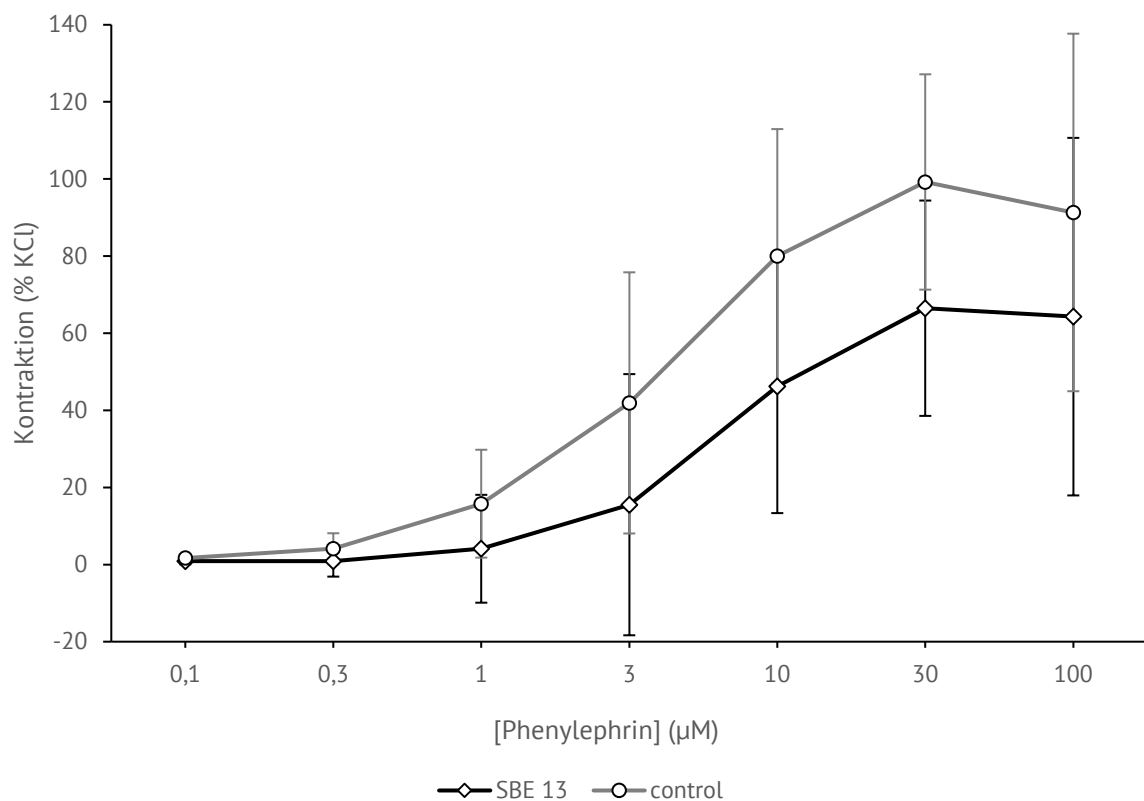


Abbildung 13: Effekt von SBE 13 auf die Phenylephrin-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (SBE 13) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=8 Patienten.

Tabelle 11: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + Phenylephrin in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

Phenylephrin Stoffmen- genkonzentration ( $\mu\text{M}$ )	SBE 13 (% der KCl-indu- zierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontrak- tion)
0,1	1	2
0,3	1	4
1	4	16
3	16	42
10	46	80
30	66	99
100	64	91

Die statistische Auswertung zeigt, dass für die Konzentrationen ab  $3 \mu\text{M}$  und im Gruppenvergleich eine signifikante Hemmung durch SBE 13 vorliegt (siehe Tab. 12).

Tabelle 12: Varianzanalyse SBE 13 + Phenylephrin. Bei Unterschreiten des Signifikanzniveaus von  $\alpha=0,05$  sind die entsprechenden Werte mit \* gekennzeichnet.

Phenylephrin Stoffmengenkonzentra- tion ( $\mu\text{M}$ )	p-Werte ANOVA
0,1	0,953
0,3	0,81
1	0,38
3	0,049*
10	0,012*
30	0,015*
100	0,044*
<i>group</i>	<0.001*

### 5.1.3 Methoxamin-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von fünf Patienten (n=5) wurde der Einfluss von SBE 13 auf die Methoxamin-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von SBE 13 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit Methoxamin (0,1-100  $\mu$ M) konzentrationsabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangenen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 14, Tab. 13). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von SBE 13 zu einer signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe.

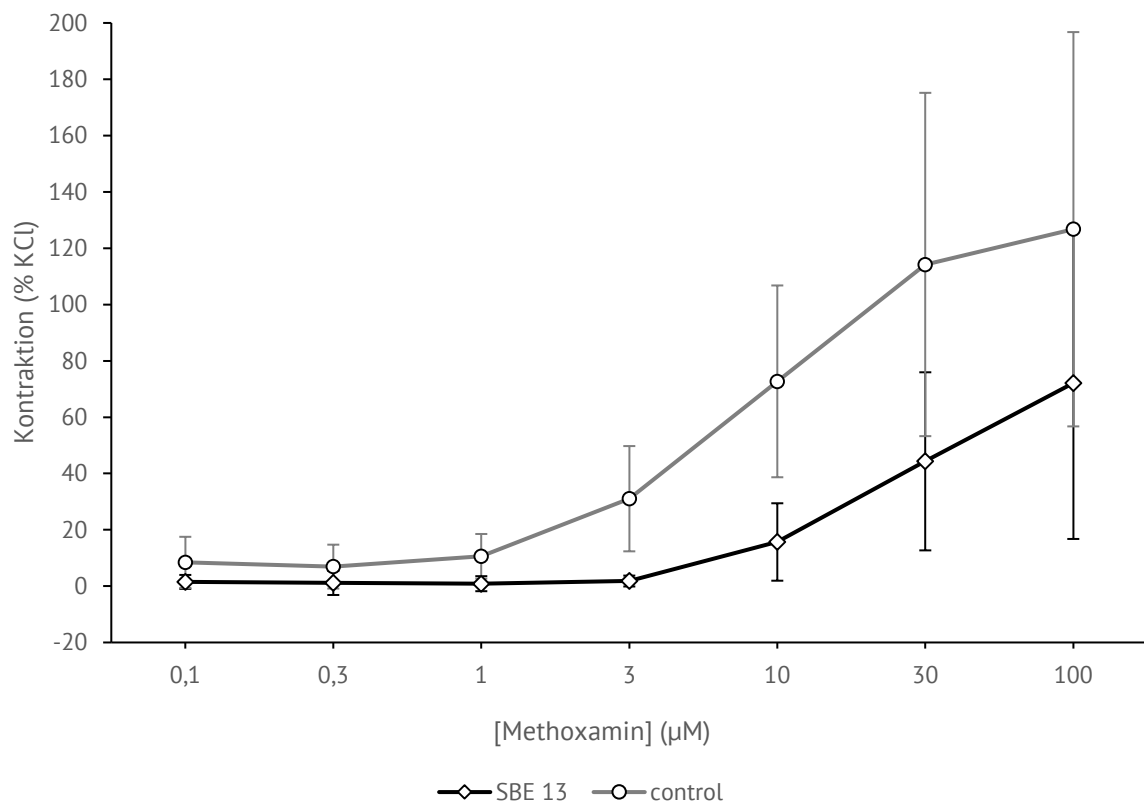


Abbildung 14: Effekt von SBE 13 auf die Methoxamin-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (SBE 13) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=5 Patienten.

Tabelle 13: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + Methoxamin in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

Methoxamin Stoffmen- genkonzentration (µM)	SBE 13 (% der KCl-indu- zierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontrak- tion)
0,1	2	8
0,3	1	7
1	1	11
3	2	31
10	16	73
30	44	114
100	72	127

Die statistische Auswertung zeigt, dass für die Konzentrationen ab 10 µM sowie im Gruppenvergleich (*group*) eine signifikante Hemmung durch SBE 13 vorliegt (siehe Tab. 14).

Tabelle 14: Varianzanalyse SBE 13 + Methoxamin. Bei Unterschreiten des Signifikanzniveaus von  $\alpha=0,05$  sind die entsprechenden Werte mit \* gekennzeichnet.

Methoxamin Stoffmengenkonzentration (µM)	p-Werte ANOVA
0,1	0,736
0,3	0,778
1	0,636
3	0,158
10	0,007*
30	0,001*
100	0,01*
<i>group</i>	<0.001*



#### 5.1.4 U46619-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von neun Patienten (n=9) wurde der Einfluss von SBE 13 auf die TXA<sub>2</sub>-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von SBE 13 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit U46619 (0,1-30 µM) konzentrationsabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangenen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 15, Tab. 15). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von SBE 13 zu keiner signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Auch die grafische Darstellung in Abbildung 15 lässt keine Kontraktionshemmung durch SBE13 erkennen.

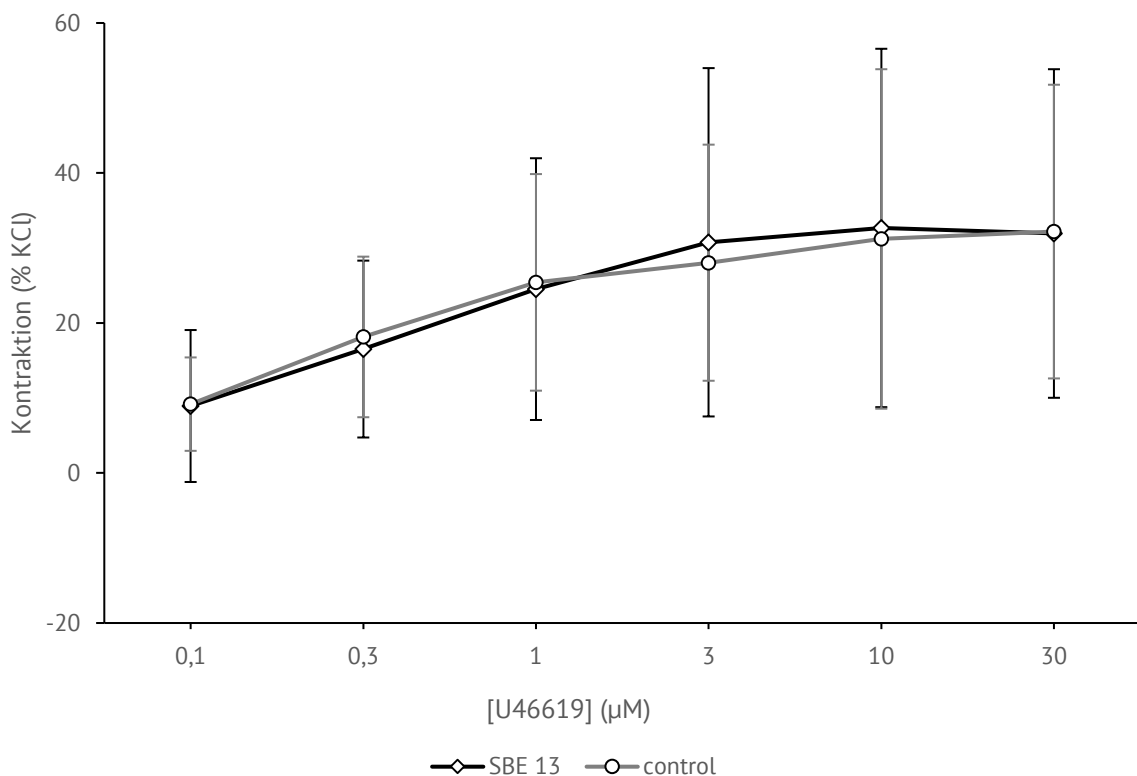


Abbildung 15: Effekt von SBE 13 auf die durch U46619 ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (SBE 13) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=9 Patienten.

Tabelle 15: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + U46619 in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

U46619 Stoffmengenkon- zentration (µM)	SBE 13 (% der KCl-indu- zierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontrak- tion)
0,1	9	9
0,3	17	18
1	25	25
3	31	28
10	33	31
30	32	32

### 5.1.5 Endothelin-1-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von drei Patienten (n=3) wurde der Einfluss von SBE 13 auf die ET-1-vermittelte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von SBE 13 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit ET-1 (0,1-3  $\mu$ M) konzentrationsabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangenen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 16, Tab. 17). In der gewählten Versuchskonstellation zeigte sich nach drei Experimenten keine Kontraktionshemmung durch SBE 13, sodass keine weiteren Experimente für diese Versuchsreihe durchgeführt wurden.

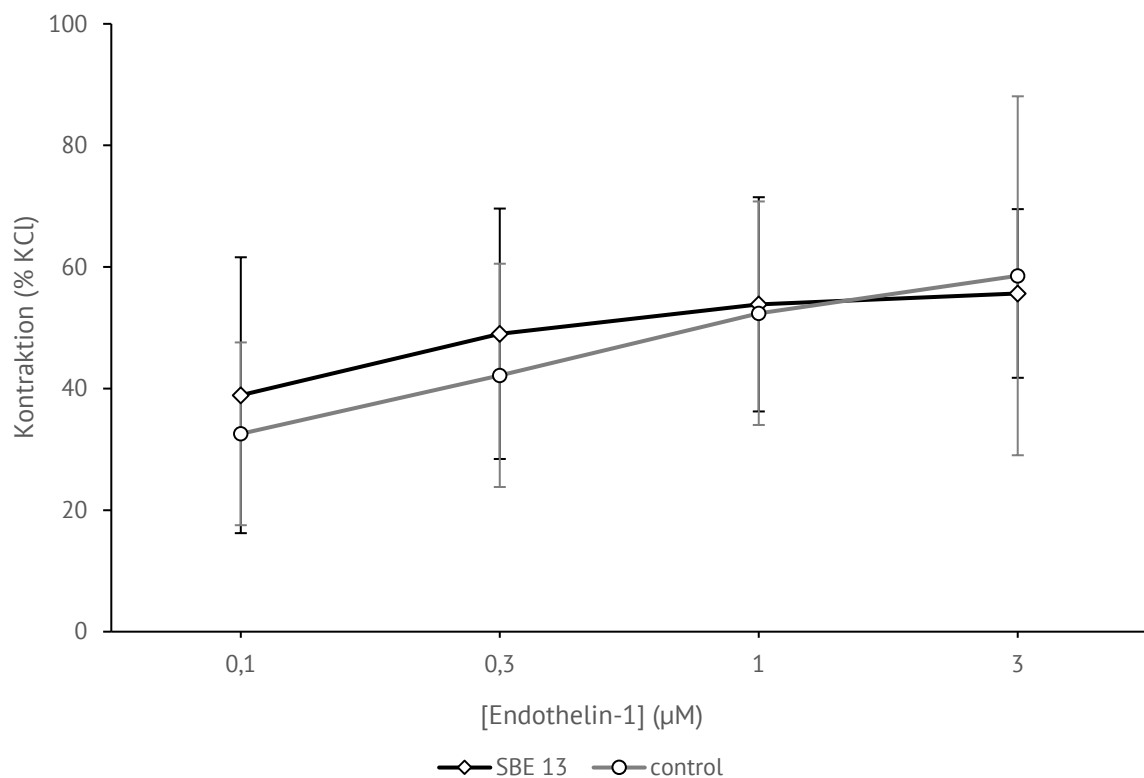


Abbildung 16: Effekt von SBE 13 auf die durch ET-1 ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (SBE 13) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion, n=3 Patienten.

Tabelle 16: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + ET-1 in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

ET-1 Stoffmengenkonzentration ( $\mu\text{M}$ )	SBE 13 (% der KCl-induzierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontraktion)
0,1	39	33
0,3	49	42
1	54	52
3	56	59

### 5.1.6 EFS-induzierte Kontraktion

Mittels EFS wurde in einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von sieben Patienten (n=7) der Einfluss von SBE 13 auf die neurogene Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von SBE 13 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit EFS (2-32 Hz) frequenzabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Frequenz-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangenen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 17, Tab. 17). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von SBE 13 zu einer signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Auch in der grafischen Darstellung in Abb. 17 ist der Unterschied zwischen Inhibitor- und Kontrollgruppe erkennbar.

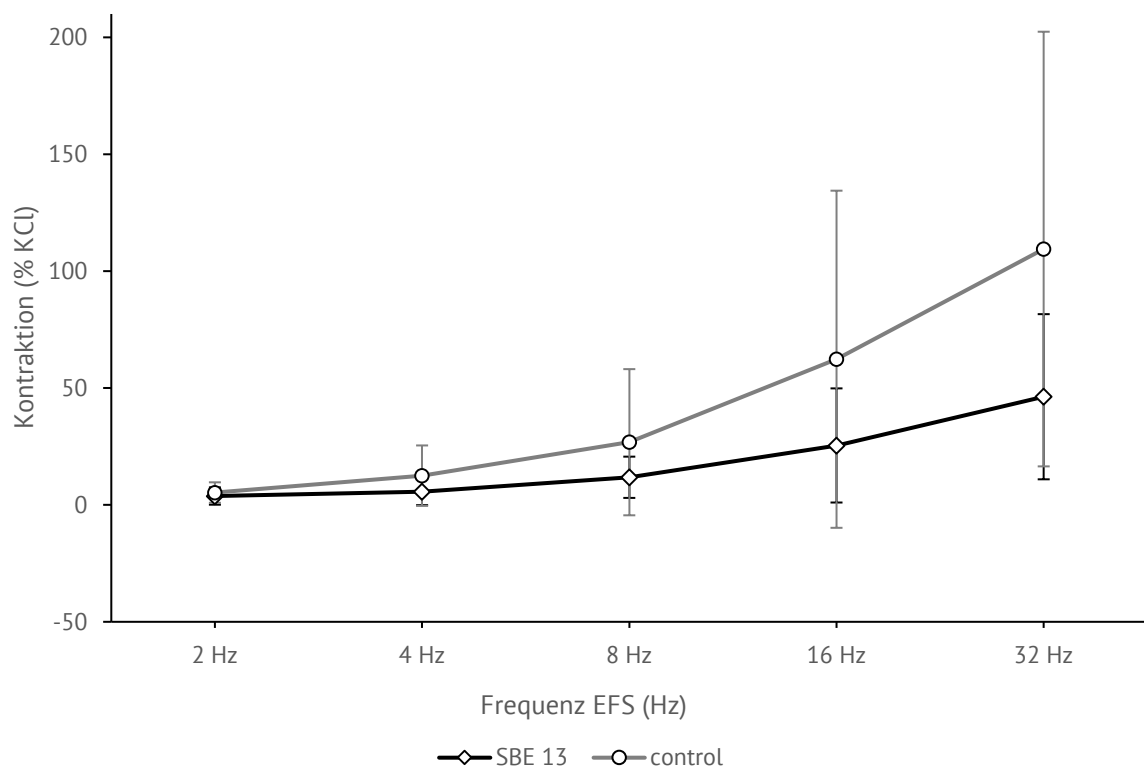


Abbildung 17: Effekt von SBE 13 auf die EFS-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (SBE 13) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=7 Patienten.

Tabelle 17: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + EFS in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

EFS Frequenz (Hz)	SBE 13 (% der KCl-induzierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontraktion)
2	4	5
4	6	13
8	12	27
16	25	62
32	46	109

Die statistische Auswertung zeigt, dass eine signifikante Hemmung durch SBE 13 bei 32 Hz vorliegt (siehe Tab. 20). Außerdem zeigt sich eine signifikante Hemmung der Kontraktion im Gruppenvergleich.

Tabelle 18: Varianzanalyse SBE 13 + EFS. Bei Unterschreiten des Signifikanzniveaus von  $\alpha=0,05$  sind die entsprechenden Werte mit \* gekennzeichnet.

EFS Frequenz (Hz)	p-Werte ANOVA
2	0,947
4	0,754
8	0,498
16	0,099
32	0,006*
<i>group</i>	0,015*

## 5.2 Effekte von Cyclapolin 9

### 5.2.1 Noradrenalin-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von fünf Patienten (n=5) wurde der Einfluss von Cyclapolin 9 auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von Cyclapolin 9 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit Noradrenalin (0,1-100  $\mu\text{M}$ ) konzentrationsabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 18, Tab. 19). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von Cyclapolin 9 zu einer signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe.

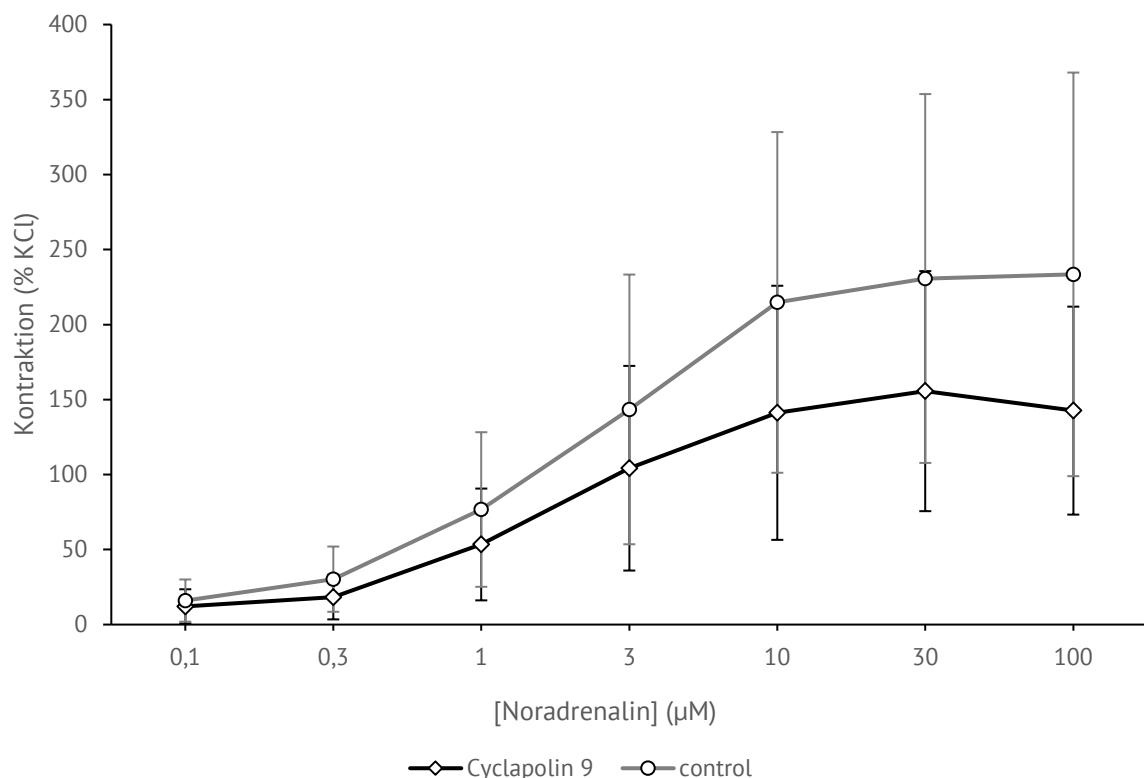


Abbildung 18: Effekt von Cyclapolin 9 auf die durch Noradrenalin ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (Cyclapolin 9) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=5 Patienten.

Tabelle 19: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + Noradrenalin in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

Noradrenalin Stoffmen- genkonzentration ( $\mu\text{M}$ )	Cyclapolin 9 (% der KCl- induzierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontrak- tion)
0,1	12	16
0,3	18	30
1	53	77
3	104	143
10	141	215
30	156	231
100	143	233

Die statistische Auswertung zeigt, dass für die Noradrenalinkonzentrationen 30  $\mu\text{M}$  und 100  $\mu\text{M}$  eine signifikante Hemmung durch Cyclapolin 9 vorliegt. Außerdem liegt im Gruppenvergleich (*group*) Experimentalgruppe versus Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied vor (siehe Tab. 22).

Tabelle 20: Varianzanalyse Cyclapolin 9 + Noradrenalin. Bei Unterschreiten des Signifikanzniveaus von  $\alpha=0,05$  sind die entsprechenden Werte mit \* gekennzeichnet.

Noradrenalin Stoffmengenkonzen- tration ( $\mu\text{M}$ )	p-Werte ANOVA
0,1	0,686
0,3	0,454
1	0,36
3	0,304
10	0,08
30	0,019*
100	0,013*
<i>group</i>	<0.001*



### 5.2.2 Phenylephrin-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von neun Patienten (n=9) wurde der Einfluss von Cyclapolin 9 auf die Phenylephrin-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von Cyclapolin 9 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit Phenylephrin (0,1-100  $\mu\text{M}$ ) konzentrationsabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangenen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 19, Tab. 21). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von Cyclapolin 9 zu keiner signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe (siehe Tab. 22).

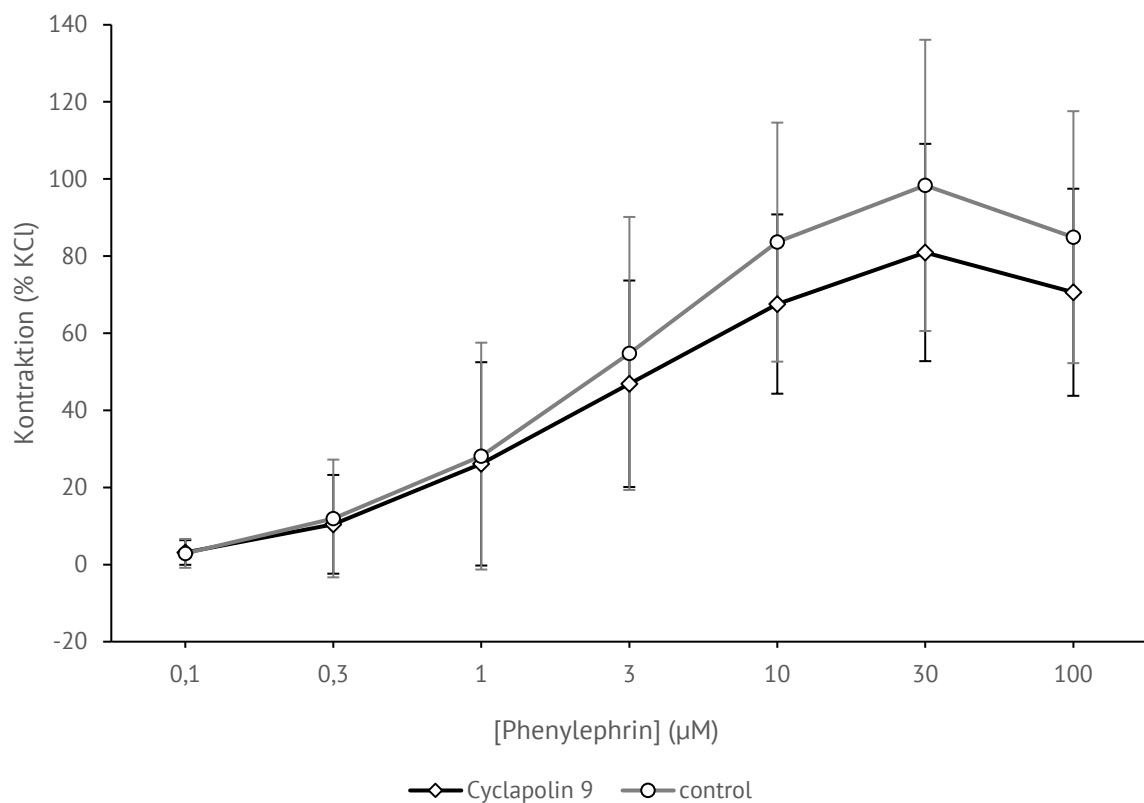


Abbildung 19: Effekt von Cyclapolin 9 auf die Phenylephrin-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (Cyclapolin 9) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=9 Patienten.

Tabelle 21: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + Phenylephrin in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

Phenylephrin Stoffmen- genkonzentration ( $\mu\text{M}$ )	Cyclapolin 9 (% der KCl- induzierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontrak- tion)
0,1	3	3
0,3	10	12
1	26	28
3	47	55
10	68	84
30	81	98
100	71	85

Die statistische Auswertung zeigt, dass weder für einzelne Konzentrationen des Agonisten noch die gesamte Gruppe eine signifikante Hemmung durch Cyclapolin 9 vorliegt (siehe Tab. 24).

Tabelle 22: Varianzanalyse Cyclapolin 9 + Phenylephrin.

Phenylephrin Stoffmengenkonzentra- tion ( $\mu\text{M}$ )	p-Werte ANOVA
0,1	0,985
0,3	0,902
1	0,87
3	0,522
10	0,193
30	0,158
100	0,246
<i>group</i>	0,072

### 5.2.3 Methoxamin-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von 13 Patienten (n=13) wurde der Einfluss von Cyclapolin 9 auf die Methoxamin-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von Cyclapolin 9 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit Methoxamin (0,1-100  $\mu\text{M}$ ) konzentrationsabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 20, Tab. 23). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von Cyclapolin 9 zu einer signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe (siehe Tab. 24).

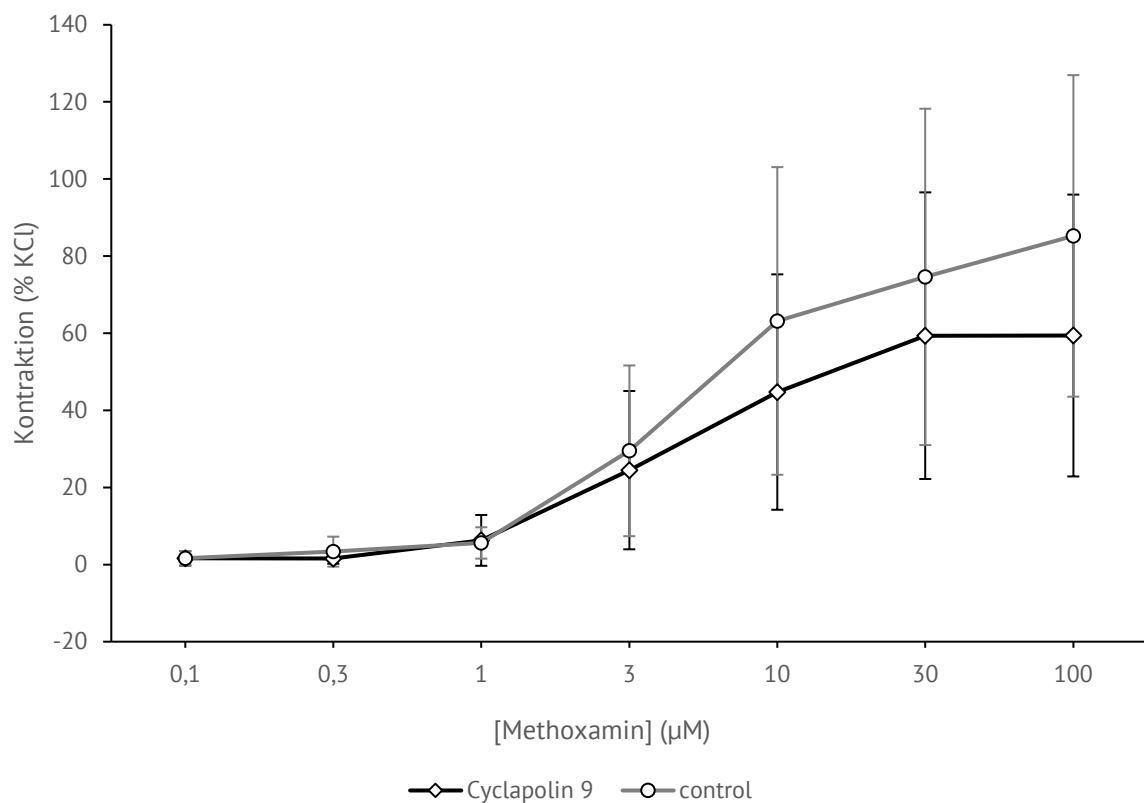


Abbildung 20: Effekt von Cyclapolin 9 auf die Methoxamin-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (Cyclapolin 9) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion, n=13 Patienten.

Tabelle 23: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + Methoxamin in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

Methoxamin Stoffmen- genkonzentration ( $\mu\text{M}$ )	Cyclapolin 9 (% der KCl- induzierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontrak- tion)
0,1	2	2
0,3	2	3
1	6	6
3	24	30
10	45	63
30	59	75
100	59	85

Die statistische Auswertung zeigt, dass für 100  $\mu\text{M}$  eine signifikante Hemmung durch Cyclapolin 9 vorliegt (siehe Tab. 26).

Tabelle 24: Varianzanalyse Cyclapolin 9 + Methoxamin. Bei Unterschreiten des Signifikanzniveaus von  $\alpha=0,05$  sind die entsprechenden Werte mit \* gekennzeichnet.

Methoxamin Stoffmengenkonzentration ( $\mu\text{M}$ )	p-Werte ANOVA
0,1	0,998
0,3	0,865
1	0,949
3	0,631
10	0,078
30	0,145
100	0,014*
<i>group</i>	0,018*

#### 5.2.4 U46619-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von sechs Patienten (n=6) wurde der Einfluss von Cyclopamin 9 auf die TXA<sub>2</sub>-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von Cyclopamin 9 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit U46619 (0,1-30 µM) konzentrationsabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 21, Tab. 25). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von Cyclopamin 9 zu keiner signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Auch die grafische Darstellung in Abbildung 21 legt keine deutliche Kontraktionshemmung durch SBE 13 nahe, daher wurde diese Versuchsreihe nicht weiterverfolgt.

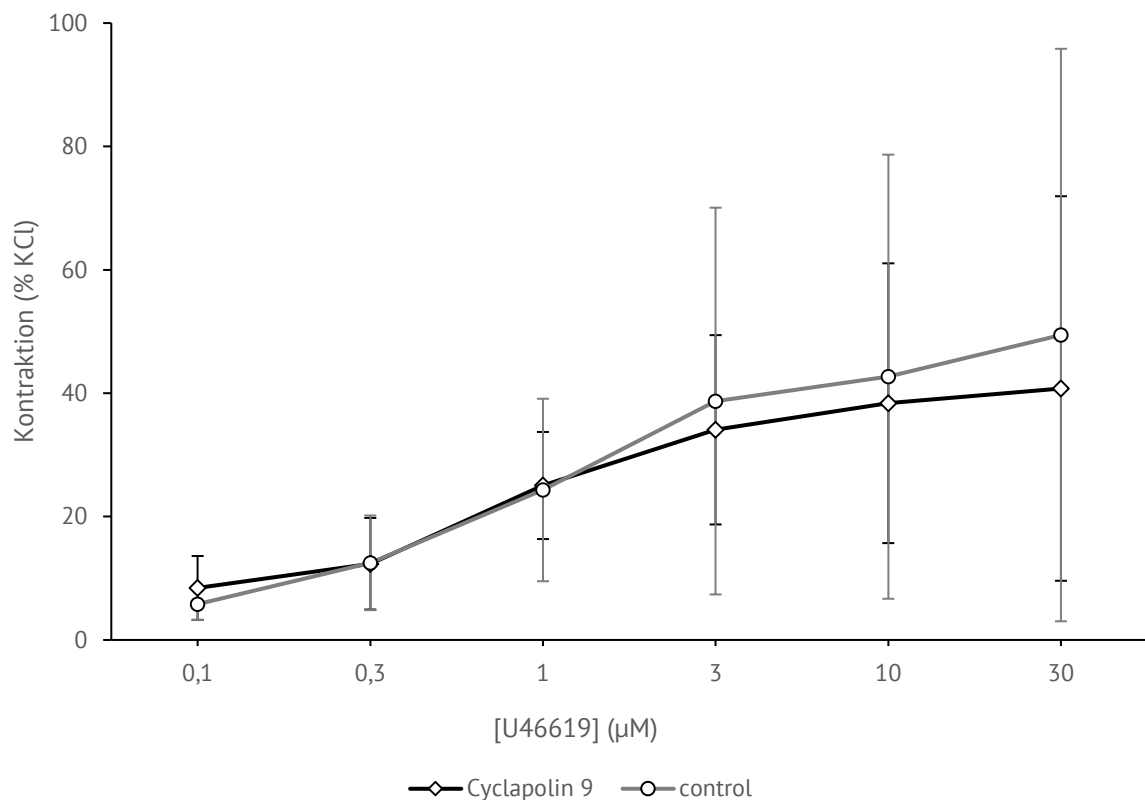


Abbildung 21: Effekt von Cyclopamin 9 auf die U46619-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (Cyclopamin 9) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=6 Patienten.

Tabelle 25: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclopolin 9 + U46619 in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

U46619 Stoffmengenkon- zentration ( $\mu\text{M}$ )	Cyclopolin 9 (% der KCl- induzierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontrak- tion)
0,1	8	6
0,3	12	13
1	25	24
3	34	39
10	38	43
30	41	49

### 5.2.5 Endothelin-1-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von drei Patienten (n=3) wurde der Einfluss von Cyclapolin 9 auf die ET-1-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von Cyclapolin 9 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit ET-1 (0,1-3 $\mu$ M) konzentrationsabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 22, Tab. 26). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von Cyclapolin 9 zu keiner signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Auch die grafische Darstellung in Abb. 22 lässt keine Kontraktionshemmung durch Cyclapolin 9 erkennen, daher wurde diese Versuchsreihe nach drei Experimenten abgebrochen.

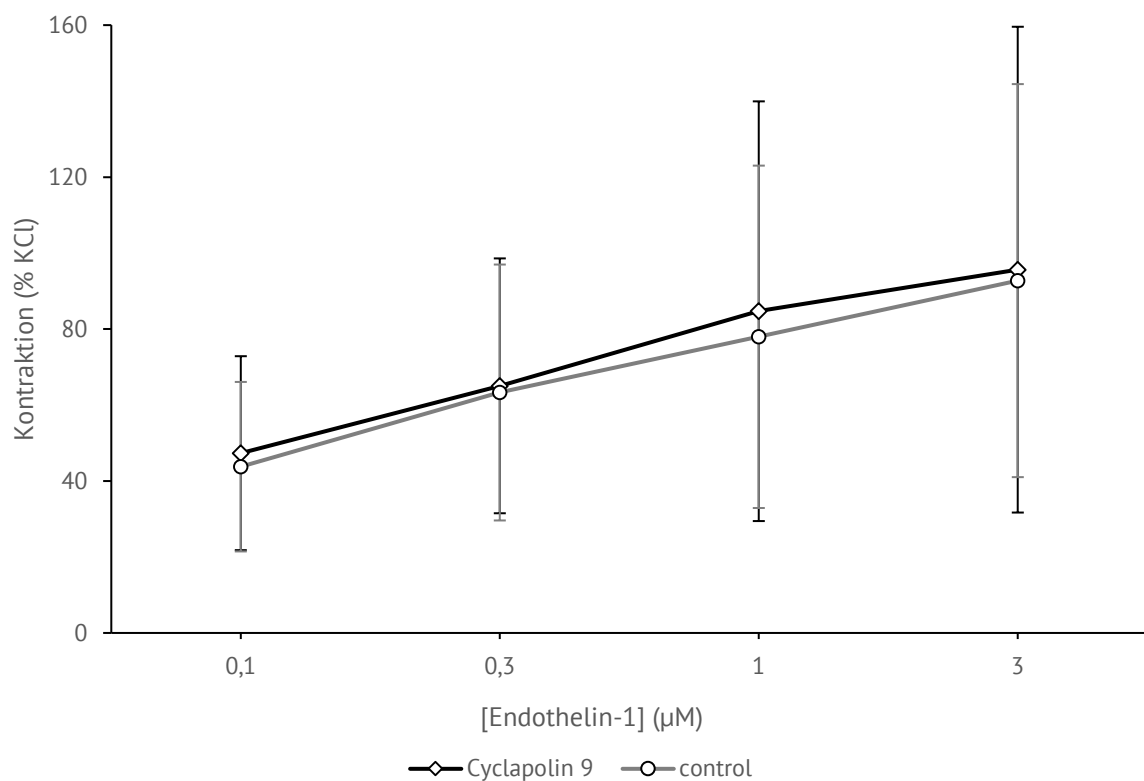


Abbildung 22: Effekt von Cyclapolin 9 auf die ET-1-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (Cyclapolin 9) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=3 Patienten.

Tabelle 26: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + ET-1 in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

ET-1 Stoffmengenkon- zentration (µM)	Cyclapolin 9 (% der KCl- induzierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontrak- tion)
0,1	47	44
0,3	65	63
1	85	78
3	96	93



### 5.2.6 EFS-induzierte Kontraktion

Mittels EFS wurde in einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von sieben Patienten (n=7) der Einfluss von Cyclapolin 9 auf die neurogene Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von Cyclapolin 9 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mit EFS (2-32 Hz) frequenzabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Frequenz-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangenen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 23, Tab. 27). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von Cyclapolin 9 zu einer signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Auch in der grafischen Darstellung in Abb. 23 ist die Kontraktionshemmung erkennbar.

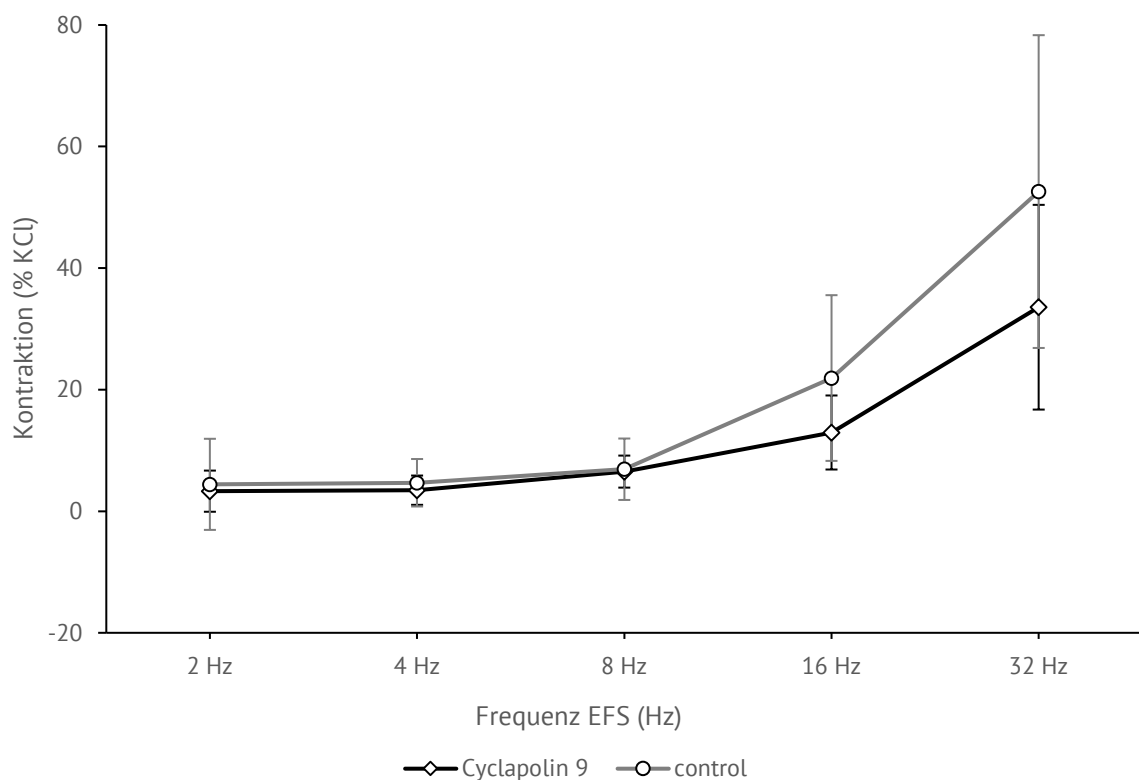


Abbildung 23: Effekt von Cyclapolin 9 auf die durch EFS ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (Cyclapolin 9) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=7 Patienten.

Tabelle 27: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + EFS in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

EFS Frequenz (Hz)	Cyclapolin 9 (% der KCl-induzierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontraktion)
2	3	4
4	3	5
8	7	7
16	13	22
32	34	53

Die statistische Auswertung zeigt, dass eine signifikante Hemmung durch Cyclapolin 9 bei 32 Hz vorliegt (siehe Tab. 32).

Tabelle 28: Varianzanalyse Cyclapolin 9 + EFS. Bei Unterschreiten des Signifikanzniveaus von  $\alpha=0,05$  sind die entsprechenden Werte mit \* gekennzeichnet.

EFS Frequenz (Hz)	p-Werte ANOVA
2	0,854
4	0,841
8	0,949
16	0,145
32	0,003*
<i>group</i>	0,027*

## 5.3 Effekte von Tak 960

### 5.3.1 EFS-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von sieben Patienten (n=7) wurde der Einfluss von Tak 960 auf die EFS-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von Tak 960 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mittels EFS (2-32 Hz) frequenzabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Frequenz-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 24, Tab. 29). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von Tak 960 zu einer signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe.

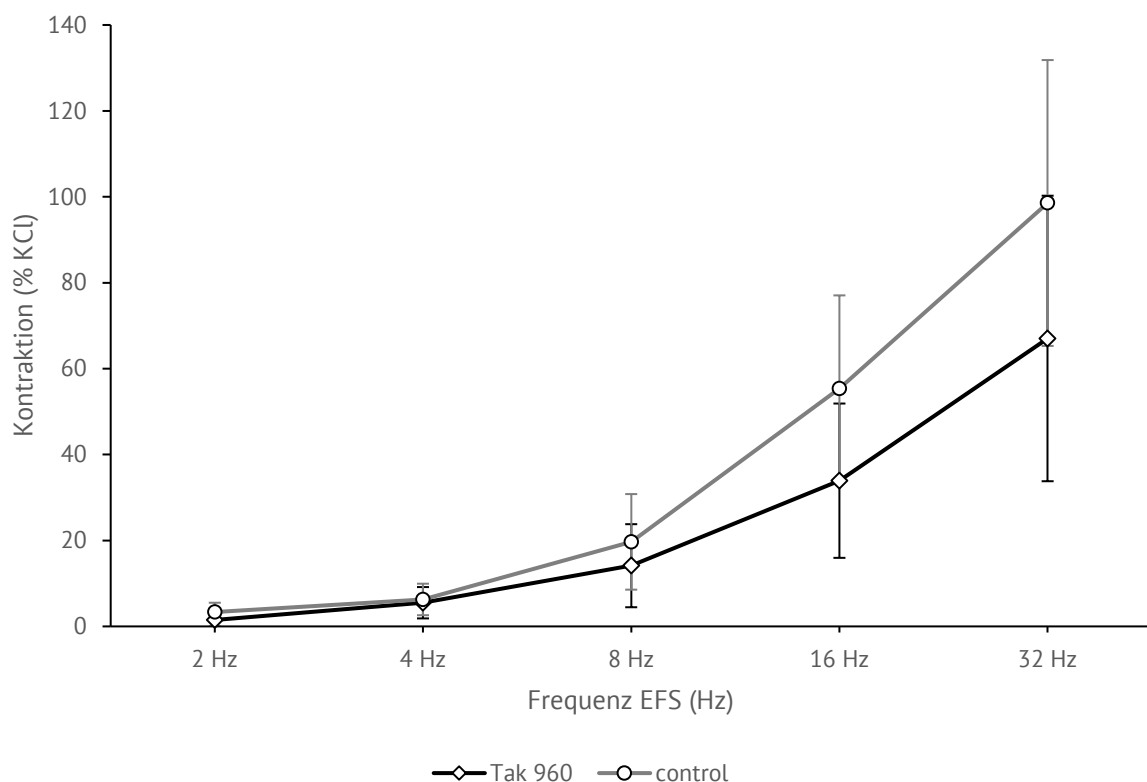


Abbildung 24: Effekt von Tak 960 auf die durch EFS ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (Tak 960) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=7 Patienten.

Tabelle 29: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Tak 960 + EFS in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

EFS Frequenz (Hz)	Tak 960 (% der KCl-induzierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontraktion)
2	1	3
4	6	6
8	14	20
16	34	55
32	67	99

Die statistische Auswertung zeigt, dass eine signifikante Hemmung durch Tak 960 bei Frequenzen über 16 Hz vorliegt (siehe Tab. 34). Auch im Gruppenvergleich (*group*) zeigt sich eine signifikante Kontraktionshemmung.

Tabelle 30: Varianzanalyse Tak 960 + EFS. Bei Unterschreiten des Signifikanzniveaus von  $\alpha=0,05$  sind die entsprechenden Werte mit \* gekennzeichnet.

EFS Frequenz (Hz)	p-Werte ANOVA
2	0,849
4	0,937
8	0,567
16	0,03*
32	0,002*
<i>group</i>	0,006*

## 5.4 Effekte von Ro 3280

### 5.4.1 EFS-induzierte Kontraktion

In einer Versuchsreihe mit Prostatagewebe von zehn Patienten (n=10) wurde der Einfluss von Ro 3280 auf die EFS-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata untersucht. Nach der Zugabe von Ro 3280 beziehungsweise DMSO als Kontrolle wurden mittels EFS (2-32 Hz) frequenzabhängige Kontraktionen ausgelöst. Für die Frequenz-Wirkungs-Kurven von Inhibitor- und Kontrollgruppe wird die Kontraktionsstärke in Prozent der vorausgegangen KCl-induzierten Kontraktion angegeben (siehe Abb. 25, Tab. 31). In der gewählten Versuchskonstellation führte die Zugabe von Ro 3280 zu einer signifikanten Hemmung der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Auch grafisch ist die Kontraktionshemmung in Abbildung 25 erkennbar.

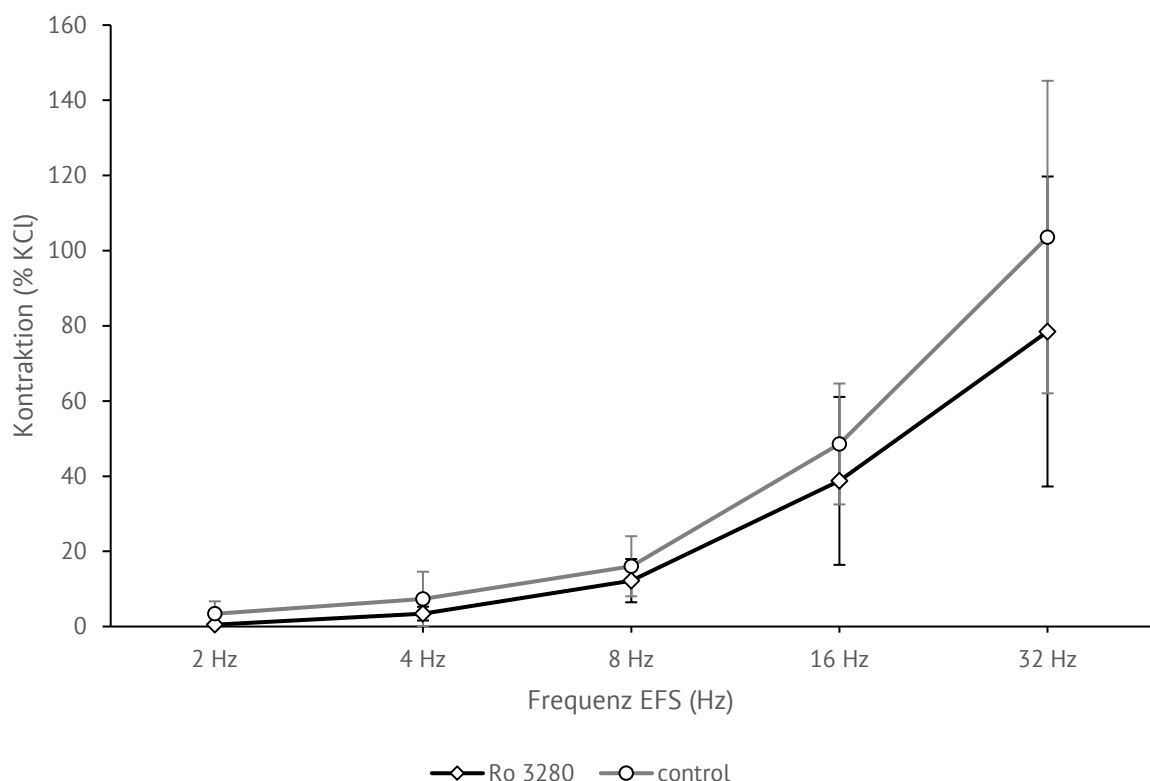


Abbildung 25: Effekt von Ro 3280 auf die durch EFS ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad. Gezeigt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung für Versuchsgruppe (Ro 3280) und Kontrollgruppe (control) in % der KCl-induzierten Kontraktion. n=10 Patienten.

Tabelle 31: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Ro 3280 + EFS in % der standardisierten KCl-Kontraktion.

EFS Frequenz (Hz)	Ro 3280 (% der KCl-induzierten Kontraktion)	Kontrollgruppe (% der KCl-induzierten Kontraktion)
2	0	3
4	3	7
8	12	16
16	39	49
32	78	104

Die statistische Auswertung zeigt, dass eine signifikante Hemmung durch Ro 3280 sowohl bei 32 Hz als auch im Gruppenvergleich (*group*) vorliegt (siehe Tab. 36).

Tabelle 32: Varianzanalyse Ro 3280 + EFS. Bei Unterschreiten des Signifikanzniveaus von  $\alpha=0,05$  sind die entsprechenden Werte mit \* gekennzeichnet.

EFS Frequenz (Hz)	p-Werte ANOVA
2	0,758
4	0,675
8	0,683
16	0,296
32	0,008*
<i>group</i>	0,032*

## 6 Diskussion

Das BPS ist eine Volkskrankheit des älteren Mannes und durch die hohe Prävalenz, Progredienz und die Kosten der Erkrankung von hoher gesundheitsökonomischer Relevanz [3, 151, 152]. Die Symptome des BPS sind im Allgemeinen nicht lebensbedrohlich, haben jedoch einen großen Einfluss auf die Lebensqualität der Patienten [2, 61]. Die Pathophysiologie von LUTS im Rahmen eines BPS ist gekennzeichnet von der engen Verknüpfung von BPE und einem erhöhten glattmuskulären Tonus [7]. Das Verständnis der glattmuskulären Kontraktion der Prostata ist jedoch bislang unvollständig.

In den letzten Jahren konnten verschiedene Untersuchungen, unter anderem aus dem Labor des Promovenden, bisher unbekannte Mechanismen aufzeigen. In Organbadversuchen ähnlich der hier vorgestellten Untersuchungen konnte verschiedenen Kinasen und GTPasen eine Beteiligung an der glattmuskulären Kontraktion der hyperplastischen Prostata nachgewiesen werden. Ein Beispiel sind Tyrosinkinasen der SRC Familie (SFK), die ähnlich wie PLKs unter anderem an der Kontrolle des Zellzyklus beteiligt sind. SFK-Inhibitoren hemmen die neurogene und  $\alpha_1$ -adrenerge Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur; Ursache könnte eine gestörte Koordination des Zytoskeletts sein [153]. Auch p21-aktivierte Kinasen (PAK) sind an vielfältigen intrazellulären Signalwegen beteiligt, wie etwa der Regulation von Zellzyklus und Zytoskelett. Bei Inhibition der PAK in hyperplastischem Prostatagewebe zeigte sich eine verminderte neurogene und TXA<sub>2</sub>-vermittelte Kontraktion der glatten Muskulatur [8]. Die GTPase ARF6 hingegen ist an der Vermittlung der neurogenen und  $\alpha_1$ -adrenergen Kontraktion beteiligt [154]. Dies gilt auch für die Rac-GTPase, die darüber hinaus auch Einfluss auf die Endothelin- und TXA<sub>2</sub>-vermittelte Kontraktion hat [9, 155].

Vor allem aus klinischer Perspektive könnten solche Erkenntnisse hilfreich sein, um in Zukunft durch ein besseres Verständnis des glattmuskulären Muskeltonus der Prostata die Behandlungsmöglichkeiten von LUTS im Rahmen des BPS zu verbessern. Im

Idealfall ergeben sich hieraus neue Angriffspunkte und Wirkstoffe, um den glattemuskulären Tonus in der hyperplastischen Prostata zu senken. Dies wäre besonders im Hinblick auf die unzureichende Wirksamkeit und hohen Abbrecherraten der derzeitigen Standardmedikamente wünschenswert. Bei  $\alpha_1$ -Blockern nehmen zwölf Monate nach Erstverschreibung nur noch 35 % der Patienten ihre Medikation ein [93]. Abgesehen von Nebenwirkungen liegt dies vor allem an der unzureichenden Wirksamkeit bei bis zu 70 % der Patienten [97]. Oft ist eine Kombinationstherapie aus  $\alpha_1$ -Blockern und 5ARI nötig; diese besitzt jedoch noch höhere Abbrecherraten [93].

In der vorliegenden Arbeit wurden in Organbadversuchen die Effekte von Inhibitoren der PLK1 auf die glattemuskuläre Kontraktion hyperplastischen Prostatagewebes untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass die neurogene und  $\alpha_1$ -adrenerge Kontraktion der glatten Muskulatur in der humanen Prostata durch PLK1-Inhibitoren gehemmt werden kann. Im Gegensatz dazu konnte in der durch ET-1 und TXA<sub>2</sub> vermittelten Kontraktion keine signifikante Hemmung durch die untersuchten PLK1-Inhibitoren beobachtet werden. Diese Ergebnisse deuten auf eine Beteiligung der PLK1 an der  $\alpha_1$ -adrenergen, nicht jedoch der durch ET-1 und TXA<sub>2</sub> ausgelösten Kontraktion der glatten Muskulatur in humanem, hyperplastischen Prostatagewebe.

Es ist davon auszugehen, dass die gemessenen Effekte auf die verwendeten Inhibitoren und somit eine Hemmung der PLK1 zurückzuführen sind. SBE13 hemmt mit hoher Selektivität die PLK1, im Vergleich zu anderen Kinasen wie PLK2, PLK3 oder Aurora A Kinase [156, 157]. Bei einem IC<sub>50</sub> von 200 pM wurde in dieser Arbeit eine Konzentration von 1  $\mu$ M gewählt. Auch Cyclapolin 9 ist ein hochselektiver Inhibitor für die PLK1 mit einem IC<sub>50</sub> von 500 nM [136]. Hier wurde eine Konzentration von 3  $\mu$ M verwendet. Auch für Tak 960 (IC<sub>50</sub>: 800 pM, Konzentration hier: 100 nM) und Ro 3280 (IC<sub>50</sub>: 3 nM, Konzentration hier: 100 nM) wurden in den durchgeführten Versuchen Konzentrationen gewählt, die eine starke Inhibition der PLK1 versprechen [135, 137, 138]. Der



jeweilige  $IC_{50}$ -Wert diene als Grundlage für die in dieser Arbeit verwendeten Konzentrationen der Inhibitoren. Da die  $IC_{50}$ -Werte jedoch in biochemischen Assays ermittelt werden, müssen für den Einsatz an ex-vivo-Gewebe deutlich höhere Konzentrationen gewählt werden. Dies liegt unter anderem daran, dass die Wirkstoffe in intakten Zellen und Geweben Barrieren wie Zellwände überwinden müssen [158, 159]. Ein weiterer Grund ist, dass bei physiologischerweise intrazellulär auftretenden ATP-Konzentrationen die Wirkung von ATP-kompetitiven Inhibitoren deutlich niedriger ist als im biochemischen Assay in vitro. Beispielsweise liegt der  $IC_{50}$  von TAK 960 bei einer ATP-Konzentration von 1 mM bei 6,5 nM statt 800 pm [135]. Dennoch sollte die Konzentration der Inhibitoren nicht zu hoch gewählt werden, um Wechselwirkungen mit anderen Kinasen zu vermeiden; dies kann jedoch nicht vollständig ausgeschlossen werden. Um Effekte dieser Art zu minimieren, wurden hier vier verschiedene Inhibitoren untersucht.

Durch den Einsatz verschiedener Inhibitoren und verschiedener Agonisten ergibt sich in der vorgelegten Arbeit ein Versuchsdesign, welches den Anforderungen pharmakologischer Grundlagenstudien entspricht. Der Einsatz strukturell unterschiedlicher Inhibitoren für dieselben Zielstrukturen diene der Validierung der beobachteten Effekte. Zur Simulation der physiologischen Kontraktion wurden verschiedene kontraktile Stimuli verwendet. Alle Versuchsreihen mit adrenergen Agonisten oder EFS zeigten trotz hoher Standardabweichungen eine verminderte Kontraktion der Inhibitorgruppe, wenngleich dieser Effekt im Fall von Cyclopamin 9 + Phenylephrin nicht signifikant war. Auf der anderen Seite zeigen auch alle Versuchsreihen mit ET-1 und U46619 übereinstimmende Ergebnisse für die untersuchten Inhibitoren (SBE 13 und Cyclopamin 9). In dieser Hinsicht bestätigen sich die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen gegenseitig. Alle Inhibitoren führten in der EFS-induzierten Kontraktion zu einer signifikanten Reduktion der Kontraktionsstärke. EFS aktiviert durch Stimulation der Nerven im untersuchten Gewebe die Freisetzung von endogenen Neurotransmittern und simuliert somit die physiologische neurogene Kontraktion. Da die

Prostata durch postganglionär noradrenerge Sympathikusfasern innerviert ist, beruht die EFS-induzierte Kontraktion hauptsächlich auf denselben Signalwegen wie die  $\alpha_1$ -adrenerge Kontraktion [16].

Die  $\alpha_1$ -adrenerge Kontraktion wurde hier mithilfe von Noradrenalin, Phenylephrin und Methoxamin untersucht. Diese Agonisten unterscheiden sich durch ihre Affinität zu den jeweiligen Subtypen der Adrenozeptoren. Für diese Arbeit war vor allem die Bindung an  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren von Interesse, da diese in der Prostata exprimiert werden. In den Versuchsreihen SBE 13 + Noradrenalin, SBE 13 + Phenylephrin, SBE 13 + Methoxamin, Cyclapolin 9 + Noradrenalin und Cyclapolin 9 + Methoxamin war die Kontraktion in der Inhibitorgruppe gegenüber der Kontrollgruppe signifikant reduziert. Im Fall von Cyclapolin 9 + Phenylephrin war dieser Effekt nicht signifikant, aber dennoch erkennbar, sodass man insgesamt von einer Beteiligung der PLK1 an der  $\alpha_1$ -adrenergen Kontraktion der hyperplastischen Prostata ausgehen kann.

Da auch ET-1 und TXA<sub>2</sub> Kontraktionen der glatten Prostatamuskulatur auslösen und somit an der Pathogenese von LUTS beteiligt sein können, wurden auch Versuchsreihen mit ET-1 und dem TXA<sub>2</sub>-Analogon U46619 durchgeführt. Diese zeigten jedoch sowohl bei SBE 13 als auch Cyclapolin 9 keine Differenz zwischen Inhibitor- und Kontrollgruppe, sodass nicht von einer Mitwirkung der PLK1 an der durch ET-1 und TXA<sub>2</sub> vermittelten Kontraktion ausgegangen wird.

Mit Ro 3280 und Tak 960 wurden nur Versuchsreihen für die EFS-induzierte Kontraktion durchgeführt. Wenngleich für die  $\alpha_1$ -adrenerge, ET-1 und TXA<sub>2</sub> vermittelte Kontraktion ähnliche Ergebnisse wie bei SBE 13 und Cyclapolin 9 vermutet werden können, bleibt diese Frage offen für weitere Untersuchungen.

Die Ergebnisse der Experimente im Organbad werden gestützt durch parallel im Labor des Promovenden durchgeführte Untersuchungen, die nicht Bestandteil dieser Arbeit

sind. Mittels Polymerase-Kettenreaktion (*real time polymerase chain reaction*), Western Blot und Immunfluoreszenzfärbungen konnten die PLK1 und Phospho-PLK1 (Threonin 210) in hyperplastischem Prostatagewebe entsprechend des in Organbadversuchen verwendeten Materials nachgewiesen werden [19]. Allerdings zeigten sich mitunter starke Schwankungen zwischen den einzelnen Proben, die möglicherweise eine allgemeine Heterogenität des untersuchten Gewebes reflektieren. Während der Kontraktionsmessungen im Organbad zeigten sich starke Schwankungen der Kontraktibilität der einzelnen Proben, erkennbar an hohen Standardabweichungen in den Ergebnissen. Auch in Bezug auf den PSA-Gehalt zeigte sich das Gewebe sehr heterogen [19]. Dieser Umstand kann auf einen variierenden Grad der BPH hinweisen [160]. Im Rahmen der Fragestellung dieser Arbeit ist der BPH-Grad nicht von primärem Interesse. Allerdings ist auch nicht mit abschließender Sicherheit zu sagen, ob alle im Organbad untersuchten Gewebeproben hyperplastisches Gewebe im Sinne einer BPH enthielten. Die Gewebeproben wurden in dieser Arbeit nicht histologisch untersucht. Es bestand kein Zugriff auf die pathologisch-histologischen Befunde oder Informationen zu Symptomen und Diagnosen des Patienten. Aus Autopsiestudien ist allerdings bekannt, dass bei über 80% der Prostatakarzinome parallel eine BPH vorliegt [161, 162]. Somit ist anzunehmen, dass in dieser Arbeit zumindest zum überwiegenden Teil hyperplastisches Prostatagewebe untersucht wurde. Trotzdem sollte der unklare histologische Status bei der Interpretation der Ergebnisse beachtet werden.

Weitere Erkenntnisse über den Einfluss des BPH-Status auf die Expression der PLK1 und ihre Rolle in der glattmuskulären Kontraktion würde ein Vergleich von BPH-Gewebe mit physiologischem Gewebe liefern; solches ist jedoch nicht verfügbar. Im Hinblick auf die Suche nach medikamentösen Therapieoptionen für das BPS ist das in dieser Arbeit verwendete Material aus radikalen Prostatektomien allerdings gut geeignet. Mit den zuvor genannten Einschränkungen stellt es wahrscheinlich die Gewebesituation bei BPS-Patienten dar. Außerdem bestehen deutlich weniger Übertragungsschwierigkeiten als bei Tiermodellen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit stehen in Übereinstimmung mit Untersuchungen zur Beteiligung der PLK1 an der Kontraktion glatter Muskulatur im Respirationstrakt und kardiovaskulären System. Auch dort wurde der PLK1 eine Beteiligung an der glattmuskulären Kontraktion zugesprochen [11, 121]. Die zugrundeliegenden Mechanismen der Hemmung der glattmuskulären Prostatakontraktion durch PLK1-Inhibitoren wurden in dieser Arbeit nicht untersucht und können nicht von den Ergebnissen abgeleitet werden. Denkbar ist allerdings, dass die PLK1 in der Prostata wie im Respirationstrakt über das Zytoskelett Einfluss auf die glattmuskuläre Kontraktion nimmt. Li et al. (2016) zeigten, dass nach Knock-down von PLK1 die Phosphorylierung von Vimentin an Serin 56 in glatten Muskelzellen verringert ist [11]. Vimentin ist als Intermediärfilament Bestandteil des Zytoskeletts und somit an der intrazellulären Kraftübertragung beteiligt. Ein Knock-down der PLK1 hatte jedoch keinen Einfluss auf die Phosphorylierung der leichten Myosinketten. Somit besteht keine Beteiligung der PLK1 an der Aktivierung des Querbrückenzyklus und der Krafterzeugung, stattdessen beeinflusst die PLK1 die Kraftübertragung mittels des Zytoskeletts. Auch in der Zellteilung kontrolliert die PLK1 die Reorganisation des Zytoskeletts und die Zytokinese.

Die klinische Erprobung von PLK1-Inhibitoren findet derzeit im Rahmen von Studien bei verschiedenen onkologischen Erkrankungen statt. In diesem Zusammenhang wird über typische Nebenwirkungen antiproliferativer Wirkstoffe berichtet, vor allem hämatotoxische Nebenwirkungen wie Neutropenien und Thrombozytopenien [130, 144]. Ausgehend davon erscheint der klinische Einsatz von PLK1-Inhibitoren bei LUTS im Rahmen des BPS zunächst nicht angemessen, da eine schlechte Balance von Benefit (LUTS-Verbesserung) und Nebenwirkungen zu erwarten ist. Jedoch muss dies nicht für alle PLK1-Inhibitoren gelten. Der PLK1-Inhibitor Onvansertib konnte in ersten klinischen Studien bislang das verträglichste Nebenwirkungsprofil zeigen. Insbesondere bei geringen Dosierungen traten keine hämatotoxischen Nebenwirkungen auf. Weitere Vorteile gegenüber anderen PLK1-Inhibitoren sind die hohe orale Biover-

füßbarkeit und eine geringe Halbwertszeit von 20 bis 30 Stunden [145]. Neben weiteren Untersuchungen zur Sicherheit und Verträglichkeit mit einem größeren Patientenkollektiv sind in einem nächsten Schritt klinische Studien zur Wirksamkeit von PLK-Inhibitoren bei BPS-Patienten von Interesse. Auf diese Weise ließe sich auch ein möglicherweise bestehender Vorteil gegenüber der derzeitigen medikamentösen Standardtherapie verifizieren. Erste Anhaltspunkte dafür konnte ein Folgeprojekt aus dem Labor des Promovenden liefern (Wang et al., 2020). Dort wurde der Effekt von Onvansertib und  $\alpha_1$ -Blockern in Kombination und einzeln auf die glattnuskuläre Kontraktion humanen Prostatagewebes ex vivo untersucht. Es zeigte sich eine deutlich überlegene Kontraktionshemmung in der Kombination aus Onvansertib und  $\alpha_1$ -Blockern gegenüber einem der Wirkstoffe alleine. Darüber hinaus hemmte Onvansertib die Proliferation humaner Stromazellen der Prostata in Zellkulturen [142]. Somit ist Onvansertib potenziell in der Lage, sowohl die dynamische Komponente als auch die statische Komponente des BPS günstig zu beeinflussen. Bislang ist dazu eine Kombinationstherapie aus  $\alpha_1$ -Blockern und 5ARI nötig, die jedoch mit hohen Abbrecherraten verbunden ist [93].

Eine Verbesserung der medikamentösen Therapieoptionen könnte auch durch die Adressierung zusätzlicher Signalwege der glattnuskulären Kontraktion über die  $\alpha_1$ -adrenerge Kontraktion hinaus erreicht werden. Während die in dieser Arbeit verwendeten PLK1-Inhibitoren SBE 13 und Cyclapolin 9 keinen Effekt auf die durch Endothelin-1 vermittelte Kontraktion zeigten, konnte Onvansertib auch die Endothelin-1-vermittelte Kontraktion signifikant hemmen [142]. Ein weiterer Mediator der glattnuskulären Kontraktion der Prostata ist Thromboxan  $A_2$ . Während SBE 13, Cyclapolin 9 und Onvansertib keine Reduktion der Thromboxan  $A_2$ -vermittelten Kontraktion zeigen konnten, könnte in dieser Hinsicht möglicherweise der Wirkstoff Picotamid einen Therapieansatz darstellen [163, 164]. Dennoch werden operative Verfahren auch in Zukunft einen großen Stellenwert besitzen. Insbesondere bei Vorliegen der absoluten Operationsindikationen stellen sie eine unumgängliche Therapieoption dar.

Unabhängig von den Erkenntnissen dieser Arbeit im Hinblick auf das BPS und die möglichen Schwierigkeiten in der klinischen Anwendung steht der grundlagenwissenschaftliche Erkenntnisgewinn. Auch wenn die zugrundeliegenden Mechanismen nicht untersucht wurden, sind die Ergebnisse dieser Arbeit ein Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen zum besseren Verständnis der Rolle der PLK1 in der glattmuskulären Kontraktion der Prostata oder anderer Organe. Besondere Aktualität erhält dieses Thema durch die derzeitige Erprobung von PLK1-Inhibitoren in der Onkologie und denkbare Nebenwirkungen durch Effekte auf die glatte Muskulatur.

## 7 Zusammenfassung

Das BPS ist eine Volkskrankheit des älteren Mannes, die durch eine variable Ausprägung von LUTS, BOO/BPO und BPE gekennzeichnet ist. Eine wichtige Rolle sowohl in Pathophysiologie als auch Behandlungsmöglichkeiten des BPS spielt die glatte Muskulatur der Prostata.

In dieser Arbeit wurde in Organbadversuchen der Einfluss von PLK1-Inhibitoren auf die glattemuskuläre Kontraktion der humanen Prostata untersucht. Als Material dienten Frischgewebeprouben aus Präparaten von radikalen Prostatektomien. Es zeigte sich, dass Inhibitoren der PLK1 die neurogene und  $\alpha_1$ -adrenerge Kontraktion signifikant hemmen. Es besteht jedoch keine Wirkung auf die durch ET-1 und TXA<sub>2</sub> vermittelte Kontraktion.

Es liegt somit nahe, dass die PLK1 in Signalwege der Kontraktion glatter Muskulatur der Prostata involviert ist.





## 8 Literaturverzeichnis

1. Hautmann, R. and J.E. Gschwend, *Urologie*. 2014, Berlin [u.a.]: Springer. XIV, 572 S. .:
2. Kupelian, V., et al., *Prevalence of lower urinary tract symptoms and effect on quality of life in a racially and ethnically diverse random sample: the Boston Area Community Health (BACH) Survey*. Arch Intern Med, 2006. **166**(21): p. 2381-7.
3. Berges, R., *[Epidemiology of benign prostatic syndrome. Associated risks and management data in German men over age 50]*. Urologe A, 2008. **47**(2): p. 141-8.
4. Oelke, M. and E. Martinelli, *[Pharmacological treatment of benign prostatic hyperplasia]*. Urologe A, 2016. **55**(1): p. 81-94; quiz 95-6.
5. Djavan, B., et al., *State of the art on the efficacy and tolerability of alpha1-adrenoceptor antagonists in patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia*. Urology, 2004. **64**(6): p. 1081-8.
6. Schwabe, U. and D. Paffrath, *Arzneiverordnungs-Report 2016*. 2016, Berlin ; Heidelberg: Springer. 1 Online-Ressource (XIV, 853 Seiten) .:
7. Hennenberg, M., C.G. Stief, and C. Gratzke, *Prostatic alpha1-adrenoceptors: new concepts of function, regulation, and intracellular signaling*. Neurourol Urodyn, 2014. **33**(7): p. 1074-85.
8. Wang, Y., et al., *P21-Activated Kinase Inhibitors FRAX486 and IPA3: Inhibition of Prostate Stromal Cell Growth and Effects on Smooth Muscle Contraction in the Human Prostate*. PLoS One, 2016. **11**(4): p. e0153312.
9. Wang, Y., et al., *Inhibition of prostate smooth muscle contraction and prostate stromal cell growth by the inhibitors of Rac, NSC23766 and EHT1864*. Br J Pharmacol, 2015. **172**(11): p. 2905-17.
10. Sunkel, C.E. and D.M. Glover, *polo, a mitotic mutant of Drosophila displaying abnormal spindle poles*. J Cell Sci, 1988. **89 ( Pt 1)**: p. 25-38.
11. Li, J., et al., *Polo-like Kinase 1 Regulates Vimentin Phosphorylation at Ser-56 and Contraction in Smooth Muscle*. J Biol Chem, 2016. **291**(45): p. 23693-23703.
12. Schünke, M., E. Schulte, and U. Schumacher, *Prometheus - Lernatlas der Anatomie*. 2012, Stuttgart [u.a.]: Thieme. XV, 486 S. .:
13. Welsch, U., T. Deller, and W. Kummer, *Lehrbuch Histologie*. 2014, München: Elsevier, Urban & Fischer. X, 699 S. .:
14. Wein, A.J., et al., *Campbell-Walsh Urology*. 2016: Elsevier Limited, Oxford.
15. Schmidt, R.F., *Physiologie des Menschen*. 2010, Heidelberg: Springer. XXI, 979 S. .:
16. Pape, H.-C., A. Kurtz, and S. Silbernagl, *Physiologie*. 2014, Stuttgart ; New York: Georg Thieme Verlag. 1024 Seiten .:
17. Yamana, K., F. Labrie, and V. Luu-The, *Human type 3 5alpha-reductase is expressed in peripheral tissues at higher levels than types 1 and 2 and its activity is potently inhibited by finasteride and dutasteride*. Horm Mol Biol Clin Investig, 2010. **2**(3): p. 293-9.

18. Michel, M.S., et al., *Die Urologie: Band I: Retroperitoneum, Niere, Harnblase, Harnröhre, Tumorthherapie; Band II: Prostata, äußeres Genitale, Kinderurologie, allgemeine Urologie, Infektiologie, Recht.* 2016: Springer Berlin Heidelberg.
19. Hennenberg, M., et al., *Inhibition of Prostate Smooth Muscle Contraction by Inhibitors of Polo-Like Kinases.* *Frontiers in Physiology*, 2018. **9**: p. 734.
20. Michel, M.C. and W. Vrydag, *Alpha1-, alpha2- and beta-adrenoceptors in the urinary bladder, urethra and prostate.* *Br J Pharmacol*, 2006. **147 Suppl 2**: p. S88-119.
21. Andersson, K.E., H. Lepor, and M.G. Wyllie, *Prostatic alpha 1-adrenoceptors and uroselectivity.* *Prostate*, 1997. **30**(3): p. 202-15.
22. Lepor, H., et al., *Alpha 1 adrenoceptor subtypes in the human prostate.* *J Urol*, 1993. **149**(3): p. 640-2.
23. Akinaga, J., J.A. Garcia-Sainz, and S.P. A, *Updates in the function and regulation of alpha1 -adrenoceptors.* *Br J Pharmacol*, 2019. **176**(14): p. 2343-2357.
24. Andersson, K.E., *alpha-Adrenoceptors and benign prostatic hyperplasia: basic principles for treatment with alpha-adrenoceptor antagonists.* *World J Urol*, 2002. **19**(6): p. 390-396.
25. Nasu, K., et al., *Quantification and distribution of alpha 1-adrenoceptor subtype mRNAs in human prostate: comparison of benign hypertrophied tissue and non-hypertrophied tissue.* *Br J Pharmacol*, 1996. **119**(5): p. 797-803.
26. Nelson, C., *The alpha1L-adrenoceptor is an alternative phenotype of the alpha1A-adrenoceptor.* *Br J Pharmacol*, 2008. **155**(1): p. 1-3.
27. Müller-Esterl, W., *Biochemie: Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler - Unter Mitarbeit von Ulrich Brandt, Oliver Anderka, Stefan Kerscher, Stefan Kieß und Katrin Ridinger.* 2017: Springer Berlin Heidelberg.
28. Webb, R.C., *Smooth muscle contraction and relaxation.* *Adv Physiol Educ*, 2003. **27**(1-4): p. 201-6.
29. Kitazawa, T., et al., *Receptor-coupled, permeabilized smooth muscle. Role of the phosphatidylinositol cascade, G-proteins, and modulation of the contractile response to Ca<sup>2+</sup>.* *J Biol Chem*, 1989. **264**(10): p. 5339-42.
30. Somlyo, A.P. and A.V. Somlyo, *From pharmacomechanical coupling to G-proteins and myosin phosphatase.* *Acta Physiol Scand*, 1998. **164**(4): p. 437-48.
31. Sun, G.P., et al., *Involvements of Rho-kinase and TGF-beta pathways in aldosterone-induced renal injury.* *J Am Soc Nephrol*, 2006. **17**(8): p. 2193-201.
32. Rees, R.W., et al., *Y-27632, a Rho-kinase inhibitor, inhibits proliferation and adrenergic contraction of prostatic smooth muscle cells.* *J Urol*, 2003. **170**(6 Pt 1): p. 2517-22.
33. Takahashi, R., et al., *RhoA/Rho kinase-mediated Ca<sup>2+</sup> sensitization in the contraction of human prostate.* *Neurourol Urodyn*, 2007. **26**(4): p. 547-551.
34. Strittmatter, F., et al., *Thromboxane A2 induces contraction of human prostate smooth muscle by Rho kinase- and calmodulin-dependent mechanisms.* *Eur J Pharmacol*, 2011. **650**(2-3): p. 650-5.
35. Johnson, G.L. and R. Lapadat, *Mitogen-activated protein kinase pathways*

- mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science*, 2002. **298**(5600): p. 1911-2.
36. Strittmatter, F., et al., *Inhibition of adrenergic human prostate smooth muscle contraction by the inhibitors of c-Jun N-terminal kinase, SP600125 and BI-78D3*. *Br J Pharmacol*, 2012. **166**(6): p. 1926-35.
  37. Morgan, K.G. and S.S. Gangopadhyay, *Invited review: cross-bridge regulation by thin filament-associated proteins*. *J Appl Physiol* (1985), 2001. **91**(2): p. 953-62.
  38. Walther, S., et al., *Expression and alpha1-adrenoceptor regulation of caldesmon in human prostate smooth muscle*. *Urology*, 2012. **79**(3): p. 745 e5-12.
  39. Golomb, E., et al., *Induction of atypical prostatic hyperplasia in rats by sympathomimetic stimulation*. *Prostate*, 1998. **34**(3): p. 214-21.
  40. Marinese, D., R. Patel, and P.D. Walden, *Mechanistic investigation of the adrenergic induction of ventral prostate hyperplasia in mice*. *Prostate*, 2003. **54**(3): p. 230-7.
  41. Kanagawa, K., et al., *Norepinephrine activates P44 and P42 MAPK in human prostate stromal and smooth muscle cells but not in epithelial cells*. *Prostate*, 2003. **56**(4): p. 313-8.
  42. Hennenberg, M., et al., *Silodosin inhibits noradrenaline-activated transcription factors Elk1 and SRF in human prostate smooth muscle*. *PLoS One*, 2012. **7**(11): p. e50904.
  43. Bauer, R.M., et al., *Coupling of alpha1-adrenoceptors to ERK1/2 in the human prostate*. *Urol Int*, 2011. **86**(4): p. 427-33.
  44. Hennenberg, M., et al., *Noradrenaline induces binding of Clathrin light chain A to alpha1-adrenoceptors in the human prostate*. *Prostate*, 2013. **73**(7): p. 715-23.
  45. Hennenberg, M., et al., *beta-arrestin-2 is expressed in human prostate smooth muscle and a binding partner of alpha1A-adrenoceptors*. *World J Urol*, 2011. **29**(2): p. 157-63.
  46. Turkeri, L.N., et al., *Apoptotic regression of prostatic tissue induced by short-term doxazosin treatment in benign prostatic hyperplasia*. *Arch Esp Urol*, 2001. **54**(2): p. 191-6.
  47. Nakahata, N., *Thromboxane A2: physiology/pathophysiology, cellular signal transduction and pharmacology*. *Pharmacol Ther*, 2008. **118**(1): p. 18-35.
  48. Kobayashi, S., et al., *Binding and functional properties of endothelin receptor subtypes in the human prostate*. *Mol Pharmacol*, 1994. **45**(2): p. 306-11.
  49. Langenstroer, P., et al., *Endothelin-1 in the human prostate: tissue levels, source of production and isometric tension studies*. *J Urol*, 1993. **150**(2 Pt 1): p. 495-9.
  50. Webb, M.L., et al., *Cloning and expression of an endothelin receptor subtype B from human prostate that mediates contraction*. *Mol Pharmacol*, 1995. **47**(4): p. 730-7.
  51. Salamoussa, A., et al., *The contractile effects of endothelins on the smooth muscle of the rat prostate gland*. *Eur J Pharmacol*, 2000. **403**(1-2): p. 139-45.
  52. Prayer-Galetti, T., et al., *Gene expression and autoradiographic localization of endothelin-1 and its receptors A and B in the different zones of the normal human*

- prostate. *J Urol*, 1997. **157**(6): p. 2334-9.
53. Kobayashi, S., et al., *Localization of endothelin receptors in the human prostate*. *J Urol*, 1994. **151**(3): p. 763-6.
  54. Kester, R.R., et al., *Pharmacological characterization of isolated human prostate*. *J Urol*, 2003. **170**(3): p. 1032-8.
  55. Hennenberg, M., et al., *Non-Adrenergic, Tamsulosin-Insensitive Smooth Muscle Contraction is Sufficient to Replace  $\alpha_1$ -Adrenergic Tension in the Human Prostate*. *Prostate*, 2017. **77**(7): p. 697-707.
  56. Hofner, K., et al., *[S2e guideline of the German urologists: Conservative and pharmacologic treatment of benign prostatic hyperplasia]*. *Urologe A*, 2016. **55**(2): p. 184-94.
  57. Amboss, M., *AMBOSS*. 2014-, miamed: Köln.
  58. Berges, R., et al., *[Diagnostic and differential diagnosis of benign prostate syndrome (BPS): guidelines of the German Urologists]*. *Urologe A*, 2009. **48**(11): p. 1356-60, 1362-4.
  59. WHO. *ICD-11*. 2019 01.12.2019]; ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics 2018 version]. Available from: <https://icd.who.int/browse11/l-m/en>.
  60. WHO. *ICD-10*. 2016 01.12.2019]; International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision]. Available from: <https://icd.who.int/browse10/2016/en>.
  61. Gratzke, C., et al., *EAU Guidelines on the Assessment of Non-neurogenic Male Lower Urinary Tract Symptoms including Benign Prostatic Obstruction*. *Eur Urol*, 2015. **67**(6): p. 1099-1109.
  62. Sagnier, P.P., et al., *International comparison of the community prevalence of symptoms of prostatism in four countries*. *Eur Urol*, 1996. **29**(1): p. 15-20.
  63. Lowe, F.C., et al., *Risk factors for disease progression in patients with lower urinary tract symptoms/benign prostatic hyperplasia (LUTS/BPH): a systematic analysis of expert opinion*. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2005. **8**(3): p. 206-9.
  64. Caine, M., A. Pfau, and S. Perlberg, *The use of alpha-adrenergic blockers in benign prostatic obstruction*. *Br J Urol*, 1976. **48**(4): p. 255-63.
  65. McNeal, J., *Pathology of benign prostatic hyperplasia. Insight into etiology*. *Urol Clin North Am*, 1990. **17**(3): p. 477-86.
  66. McNeal, J.E., *Origin and evolution of benign prostatic enlargement*. *Invest Urol*, 1978. **15**(4): p. 340-5.
  67. Marcelli, M. and G.R. Cunningham, *Hormonal signaling in prostatic hyperplasia and neoplasia*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999. **84**(10): p. 3463-8.
  68. Monti, S., et al., *Androgen concentrations and their receptors in the periurethral region are higher than those of the subcapsular zone in benign prostatic hyperplasia (BPH)*. *J Androl*, 1998. **19**(4): p. 428-33.
  69. Walsh, K., et al., *Distribution of vascular endothelial growth factor (VEGF) in prostate disease*. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2002. **5**(2): p. 119-22.
  70. Polnaszek, N., et al., *FGF17 is an autocrine prostatic epithelial growth factor and is upregulated in benign prostatic hyperplasia*. *Prostate*, 2004. **60**(1): p. 18-24.

71. Begun, F.P., et al., *Regional concentration of basic fibroblast growth factor in normal and benign hyperplastic human prostates*. J Urol, 1995. **153**(3 Pt 1): p. 839-43.
72. Peehl, D.M., P. Cohen, and R.G. Rosenfeld, *The insulin-like growth factor system in the prostate*. World J Urol, 1995. **13**(5): p. 306-11.
73. Isaacs, J.T. and D.S. Coffey, *Etiology and disease process of benign prostatic hyperplasia*. Prostate Suppl, 1989. **2**: p. 33-50.
74. Shapiro, E., V. Hartanto, and H. Lepor, *Quantifying the smooth muscle content of the prostate using double-immunoenzymatic staining and color assisted image analysis*. J Urol, 1992. **147**(4): p. 1167-70.
75. Lin, V.K., et al., *Myosin heavy chain gene expression in normal and hyperplastic human prostate tissue*. Prostate, 2000. **44**(3): p. 193-203.
76. McVary, K.T., et al., *Autonomic nervous system overactivity in men with lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia*. J Urol, 2005. **174**(4 Pt 1): p. 1327-433.
77. Gosling, J.A. and J.S. Dixon, *Structure of trabeculated detrusor smooth muscle in cases of prostatic hypertrophy*. Urol Int, 1980. **35**(5): p. 351-5.
78. Barry, M.J., et al., *Relationship of symptoms of prostatism to commonly used physiological and anatomical measures of the severity of benign prostatic hyperplasia*. J Urol, 1993. **150**(2 Pt 1): p. 351-8.
79. Chapple, C., *Overview on the lower urinary tract*. Handb Exp Pharmacol, 2011(202): p. 1-14.
80. Manski, D., *Urologielehrbuch.de: Ausgabe 2019*. 2018: Manski, Dr. Dirk.
81. Huang, C.L., et al., *The bidirectional relationship between anxiety, depression, and lower urinary track symptoms: A nationwide population-based cohort study*. J Psychosom Res, 2017. **100**: p. 77-82.
82. Jeong, S.M., et al., *Depression and Its Severity Are Strongly Associated with Both Storage and Voiding Lower Urinary Tract Symptoms Independently of Prostate Volume*. J Korean Med Sci, 2015. **30**(11): p. 1646-51.
83. Martin, S., et al., *Lower Urinary Tract Symptoms, Depression, Anxiety and Systemic Inflammatory Factors in Men: A Population-Based Cohort Study*. PLoS One, 2015. **10**(10): p. e0137903.
84. S. Gravas (Chair), J.N.C., M. Gacci, C. Gratzke, T.R.W. Herrmann, C. Mamoulakis, M. Rieken, M.J. Speakman, K.A.O. Tikkinen and I.K. Guidelines Associates: M. Karavitakis, S. Malde, V. Sakalis, R. Umbach, *EAU Guidelines: Treatment of non-neurogenic male LUTS*. Edn. presented at the EAU Annual Congress Barcelona 2019. 2019.
85. Djavan, B., et al., *Longitudinal study of men with mild symptoms of bladder outlet obstruction treated with watchful waiting for four years*. Urology, 2004. **64**(6): p. 1144-8.
86. Tamalunas, A., et al., *[Benign prostatic enlargement: symptoms, diagnostics and therapy]*. MMW Fortschr Med, 2019. **161**(8): p. 50-57.
87. Roehrborn, C.G., *Alfuzosin 10 mg once daily prevents overall clinical progression*

- of benign prostatic hyperplasia but not acute urinary retention: results of a 2-year placebo-controlled study.* BJU Int, 2006. **97**(4): p. 734-41.
88. McConnell, J.D., et al., *The long-term effect of doxazosin, finasteride, and combination therapy on the clinical progression of benign prostatic hyperplasia.* N Engl J Med, 2003. **349**(25): p. 2387-98.
  89. Abrams, P., et al., *Evaluation and treatment of lower urinary tract symptoms in older men.* J Urol, 2009. **181**(4): p. 1779-87.
  90. Netto, N.R., Jr., et al., *Evaluation of patients with bladder outlet obstruction and mild international prostate symptom score followed up by watchful waiting.* Urology, 1999. **53**(2): p. 314-6.
  91. Welliver, C., et al., *Trends in Lower Urinary Tract Symptoms Associated with Benign Prostatic Hyperplasia, 2004 to 2013: the Urologic Diseases in America Project.* J Urol, 2020. **203**(1): p. 171-178.
  92. Gratzke, C. and C.G. Stief, *[Medical therapy of male lower urinary tract symptoms].* Urologe A, 2013. **52**(2): p. 184-5.
  93. Cindolo, L., et al., *Drug adherence and clinical outcomes for patients under pharmacological therapy for lower urinary tract symptoms related to benign prostatic hyperplasia: population-based cohort study.* Eur Urol, 2015. **68**(3): p. 418-25.
  94. Michel, M.C., et al., *Comparison of tamsulosin efficacy in subgroups of patients with lower urinary tract symptoms.* Prostate Cancer Prostatic Dis, 1998. **1**(6): p. 332-335.
  95. Madersbacher, S., et al., *The long-term outcome of medical therapy for BPH.* Eur Urol, 2007. **51**(6): p. 1522-33.
  96. Kortmann, B.B., et al., *Urodynamic effects of alpha-adrenoceptor blockers: a review of clinical trials.* Urology, 2003. **62**(1): p. 1-9.
  97. Lee, H.N., et al., *Rate and associated factors of solifenacin add-on after tamsulosin monotherapy in men with voiding and storage lower urinary tract symptoms.* Int J Clin Pract, 2015. **69**(4): p. 444-53.
  98. Drake, M.J., *Male lower urinary tract symptoms associated with overactive bladder.* Can Urol Assoc J, 2012. **6**(5 Suppl 2): p. S136-7.
  99. Gacci, M., et al., *A systematic review and meta-analysis on the use of phosphodiesterase 5 inhibitors alone or in combination with alpha-blockers for lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia.* Eur Urol, 2012. **61**(5): p. 994-1003.
  100. Roehrborn, C.G., et al., *The effects of combination therapy with dutasteride and tamsulosin on clinical outcomes in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia: 4-year results from the CombAT study.* Eur Urol, 2010. **57**(1): p. 123-31.
  101. Kaplan, S.A., et al., *Solifenacin plus tamsulosin combination treatment in men with lower urinary tract symptoms and bladder outlet obstruction: a randomized controlled trial.* Eur Urol, 2013. **63**(1): p. 158-65.
  102. van Kerrebroeck, P., et al., *Combination therapy with solifenacin and tamsulosin*

- oral controlled absorption system in a single tablet for lower urinary tract symptoms in men: efficacy and safety results from the randomised controlled NEPTUNE trial.* Eur Urol, 2013. **64**(6): p. 1003-12.
103. Berges, R., et al., *[Therapy of benign prostate syndrome (BPS): guidelines of the German Urologists (DGU)].* Urologe A, 2009. **48**(12): p. 1503-16.
  104. Bschiepfer, T., et al., *[S2e guideline of the German urologists: Instrumental treatment of benign prostatic hyperplasia].* Urologe A, 2016. **55**(2): p. 195-207.
  105. Gratzke, C. and C.G. Stief, *[Surgical management of benign prostate syndromes].* Urologe A, 2013. **52**(3): p. 329-30.
  106. Gratzke, C., et al., *[Surgical treatment of male lower urinary tract symptoms (LUTS)].* Urologe A, 2012. **51**(9): p. 1297-306; quiz 1307.
  107. Cornu, J.N., et al., *A Systematic Review and Meta-analysis of Functional Outcomes and Complications Following Transurethral Procedures for Lower Urinary Tract Symptoms Resulting from Benign Prostatic Obstruction: An Update.* Eur Urol, 2015. **67**(6): p. 1066-1096.
  108. Liu, Z., Q. Sun, and X. Wang, *PLK1, A Potential Target for Cancer Therapy.* Transl Oncol, 2017. **10**(1): p. 22-32.
  109. van de Weerd, B.C. and R.H. Medema, *Polo-like kinases: a team in control of the division.* Cell Cycle, 2006. **5**(8): p. 853-64.
  110. Glover, D.M., I.M. Hagan, and A.A. Tavares, *Polo-like kinases: a team that plays throughout mitosis.* Genes Dev, 1998. **12**(24): p. 3777-87.
  111. Zitouni, S., et al., *Polo-like kinases: structural variations lead to multiple functions.* Nat Rev Mol Cell Biol, 2014. **15**(7): p. 433-52.
  112. Lowery, D.M., D. Lim, and M.B. Yaffe, *Structure and function of Polo-like kinases.* Oncogene, 2005. **24**(2): p. 248-59.
  113. Oueslati, A., et al., *Polo-like kinase 2 regulates selective autophagic alpha-synuclein clearance and suppresses its toxicity in vivo.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2013. **110**(41): p. E3945-54.
  114. Heinrich, P.C., M. Müller, and L. Graeve, *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie.* 2014: Springer Berlin Heidelberg.
  115. Smits, V.A., et al., *Polo-like kinase-1 is a target of the DNA damage checkpoint.* Nat Cell Biol, 2000. **2**(9): p. 672-6.
  116. Mishima, M., et al., *Cell cycle regulation of central spindle assembly.* Nature, 2004. **430**(7002): p. 908-13.
  117. Brennan, I.M., et al., *Polo-like kinase controls vertebrate spindle elongation and cytokinesis.* PLoS One, 2007. **2**(5): p. e409.
  118. Burkard, M.E., et al., *Chemical genetics reveals the requirement for Polo-like kinase 1 activity in positioning RhoA and triggering cytokinesis in human cells.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(11): p. 4383-8.
  119. Schmucker, S. and I. Sumara, *Molecular dynamics of PLK1 during mitosis.* Mol Cell Oncol, 2014. **1**(2): p. e954507.
  120. Weichert, W., et al., *Polo-like kinase 1 is overexpressed in prostate cancer and linked to higher tumor grades.* Prostate, 2004. **60**(3): p. 240-5.

121. de Carcer, G., et al., *Plk1 regulates contraction of postmitotic smooth muscle cells and is required for vascular homeostasis*. Nat Med, 2017. **23**(8): p. 964-974.
122. Li, J., R. Wang, and D.D. Tang, *Vimentin dephosphorylation at ser-56 is regulated by type 1 protein phosphatase in smooth muscle*. Respir Res, 2016. **17**(1): p. 91.
123. Tang, D.D., *Intermediate filaments in smooth muscle*. Am J Physiol Cell Physiol, 2008. **294**(4): p. C869-78.
124. Jiang, S. and D.D. Tang, *Plk1 regulates MEK1/2 and proliferation in airway smooth muscle cells*. Respir Res, 2015. **16**: p. 93.
125. Bu, Y., et al., *Silencing of polo-like kinase (Plk) 1 via siRNA causes inhibition of growth and induction of apoptosis in human esophageal cancer cells*. Oncology, 2008. **74**(3-4): p. 198-206.
126. Weiss, L. and T. Efferth, *Polo-like kinase 1 as target for cancer therapy*. Exp Hematol Oncol, 2012. **1**(1): p. 38.
127. Reagan-Shaw, S. and N. Ahmad, *Polo-like kinase (Plk) 1 as a target for prostate cancer management*. IUBMB Life, 2005. **57**(10): p. 677-82.
128. Chou, Y.S., et al., *Cytotoxic mechanism of PLK1 inhibitor GSK461364 against osteosarcoma: Mitotic arrest, apoptosis, cellular senescence, and synergistic effect with paclitaxel*. Int J Oncol, 2016. **48**(3): p. 1187-94.
129. Rodel, F., et al., *Polo-like kinase 1 as predictive marker and therapeutic target for radiotherapy in rectal cancer*. Am J Pathol, 2010. **177**(2): p. 918-29.
130. Van den Bossche, J., et al., *Spotlight on Volasertib: Preclinical and Clinical Evaluation of a Promising Plk1 Inhibitor*. Med Res Rev, 2016. **36**(4): p. 749-86.
131. Lane, H.A. and E.A. Nigg, *Antibody microinjection reveals an essential role for human polo-like kinase 1 (Plk1) in the functional maturation of mitotic centrosomes*. J Cell Biol, 1996. **135**(6 Pt 2): p. 1701-13.
132. Spankuch-Schmitt, B., et al., *Effect of RNA silencing of polo-like kinase-1 (PLK1) on apoptosis and spindle formation in human cancer cells*. J Natl Cancer Inst, 2002. **94**(24): p. 1863-77.
133. Liu, X., *SBE13 joins the family of Polo-like kinase 1 (Plk1) inhibitors*. Cell Cycle, 2010. **9**(3): p. 445-6.
134. Garuti, L., M. Roberti, and G. Bottegoni, *Polo-like kinases inhibitors*. Curr Med Chem, 2012. **19**(23): p. 3937-48.
135. Hikichi, Y., et al., *TAK-960, a novel, orally available, selective inhibitor of polo-like kinase 1, shows broad-spectrum preclinical antitumor activity in multiple dosing regimens*. Mol Cancer Ther, 2012. **11**(3): p. 700-9.
136. McInnes, C., et al., *Inhibitors of Polo-like kinase reveal roles in spindle-pole maintenance*. Nat Chem Biol, 2006. **2**(11): p. 608-17.
137. Chen, S., et al., *Identification of novel, potent and selective inhibitors of Polo-like kinase 1*. Bioorg Med Chem Lett, 2012. **22**(2): p. 1247-50.
138. Nie, Z., et al., *Discovery of TAK-960: an orally available small molecule inhibitor of polo-like kinase 1 (PLK1)*. Bioorg Med Chem Lett, 2013. **23**(12): p. 3662-6.
139. Keppner, S., et al., *SBE13, a newly identified inhibitor of inactive polo-like kinase 1*. Journal of Cheminformatics, 2010. **2**(1): p. P54.



140. Wissing, M.D., et al., *Targeting prostate cancer cell lines with polo-like kinase 1 inhibitors as a single agent and in combination with histone deacetylase inhibitors*. FASEB J, 2013. **27**(10): p. 4279-93.
141. Giordano, A., et al., *Polo-like kinase 1 (Plk1) inhibition synergizes with taxanes in triple negative breast cancer*. PLoS One, 2019. **14**(11): p. e0224420.
142. Wang, X., et al., *Onvansertib, a polo-like kinase 1 inhibitor, inhibits prostate stromal cell growth and prostate smooth muscle contraction, which is additive to inhibition by alpha1-blockers*. Eur J Pharmacol, 2020. **873**: p. 172985.
143. Doz, F., et al., *Phase I dose-escalation study of volasertib in pediatric patients with acute leukemia or advanced solid tumors*. Pediatr Blood Cancer, 2019. **66**(10): p. e27900.
144. Olmos, D., et al., *Phase I study of GSK461364, a specific and competitive Polo-like kinase 1 inhibitor, in patients with advanced solid malignancies*. Clin Cancer Res, 2011. **17**(10): p. 3420-30.
145. Weiss, G.J., et al., *Phase I dose escalation study of NMS-1286937, an orally available Polo-Like Kinase 1 inhibitor, in patients with advanced or metastatic solid tumors*. Invest New Drugs, 2018. **36**(1): p. 85-95.
146. Li, J., et al., *Cotargeting Polo-Like Kinase 1 and the Wnt/beta-Catenin Signaling Pathway in Castration-Resistant Prostate Cancer*. Mol Cell Biol, 2015. **35**(24): p. 4185-98.
147. Li, J., et al., *Targeting Plk1 to Enhance Efficacy of Olaparib in Castration-Resistant Prostate Cancer*. Mol Cancer Ther, 2017. **16**(3): p. 469-479.
148. Pradidarcheep, W., et al., *Anatomy and histology of the lower urinary tract*. Handb Exp Pharmacol, 2011(202): p. 117-48.
149. Shaikhibrahim, Z., et al., *The peripheral zone of the prostate is more prone to tumor development than the transitional zone: is the ETS family the key?* Mol Med Rep, 2012. **5**(2): p. 313-6.
150. Davenport, A.P., et al., *Endothelin*. Pharmacol Rev, 2016. **68**(2): p. 357-418.
151. Irwin, D.E., et al., *Worldwide prevalence estimates of lower urinary tract symptoms, overactive bladder, urinary incontinence and bladder outlet obstruction*. BJU Int, 2011. **108**(7): p. 1132-8.
152. Ventura, S., et al., *Novel drug targets for the pharmacotherapy of benign prostatic hyperplasia (BPH)*. Br J Pharmacol, 2011. **163**(5): p. 891-907.
153. Wang, Y., et al., *Smooth muscle contraction and growth of stromal cells in the human prostate are both inhibited by the Src family kinase inhibitors, AZM475271 and PP2*. Br J Pharmacol, 2016.
154. Yu, Q., et al., *A NAV2729-sensitive mechanism promotes adrenergic smooth muscle contraction and growth of stromal cells in the human prostate*. J Biol Chem, 2019. **294**(32): p. 12231-12249.
155. Yu, Q., et al., *New strategies for inhibition of non-adrenergic prostate smooth muscle contraction by pharmacologic intervention*. Prostate, 2019. **79**(7): p. 746-756.
156. Keppner, S., et al., *Identification and validation of a potent type II inhibitor of*

- inactive polo-like kinase 1*. ChemMedChem, 2009. **4**(11): p. 1806-9.
157. Keppner, S., et al., *Biological impact of freezing Plk1 in its inactive conformation in cancer cells*. Cell Cycle, 2010. **9**(4): p. 761-73.
158. Yu, Q., et al., *Inhibition of prostatic smooth muscle contraction by the inhibitor of G protein-coupled receptor kinase 2/3, CMPD101*. Eur J Pharmacol, 2018. **831**: p. 9-19.
159. Swinney, D.C., *Biochemical mechanisms of drug action: what does it take for success?* Nat Rev Drug Discov, 2004. **3**(9): p. 801-8.
160. Levitt, J.M. and K.M. Slawin, *Prostate-specific antigen and prostate-specific antigen derivatives as predictors of benign prostatic hyperplasia progression*. Curr Urol Rep, 2007. **8**(4): p. 269-74.
161. Bostwick, D.G., et al., *The association of benign prostatic hyperplasia and cancer of the prostate*. Cancer, 1992. **70**(1 Suppl): p. 291-301.
162. Orsted, D.D. and S.E. Bojesen, *The link between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer*. Nat Rev Urol, 2013. **10**(1): p. 49-54.
163. Hennenberg, M., et al., *The receptor antagonist picotamide inhibits adrenergic and thromboxane-induced contraction of hyperplastic human prostate smooth muscle*. Am J Physiol Renal Physiol, 2013. **305**(10): p. F1383-90.
164. Hennenberg, M., et al., *Inhibition of agonist-induced smooth muscle contraction by picotamide in the male human lower urinary tract outflow region*. Eur J Pharmacol, 2017. **803**: p. 39-47.

## 9 Anhang

### 9.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Skizze Versuchsaufbau. ....	37
Abbildung 2: Schematischer Kontraktionsverlauf .....	42
Abbildung 3: Strukturformel SBE 13 Hydrochlorid. ....	46
Abbildung 4: Strukturformel Cyclapolin 9. ....	46
Abbildung 5: Strukturformel TAK 960 Hydrochlorid. ....	47
Abbildung 6: Strukturformel Ro 3280. ....	48
Abbildung 7: Strukturformel L-Norepinephrin Hydrochlorid (Noradrenalin). ....	50
Abbildung 8: Strukturformel (R)-(-)-Phenylephrin Hydrochlorid (Phenylephrin)....	50
Abbildung 9: Strukturformel Methoxamin Hydrochlorid (Methoxamin). ....	51
Abbildung 10: Strukturformel U46619 .....	52
Abbildung 11: Strukturformel ET-1 .....	53
Abbildung 12: Effekt von SBE 13 auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	57
Abbildung 13: Effekt von SBE 13 auf die Phenylephrin-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	59
Abbildung 14: Effekt von SBE 13 auf die Methoxamin-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	61
Abbildung 15: Effekt von SBE 13 auf die durch U46619 ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	63
Abbildung 16: Effekt von SBE 13 auf die durch ET-1 ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	65
Abbildung 17: Effekt von SBE 13 auf die EFS-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	67
Abbildung 18: Effekt von Cyclapolin 9 auf die durch Noradrenalin ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	69
Abbildung 19: Effekt von Cyclapolin 9 auf die Phenylephrin-induzierte Kontraktion	

humanen Prostatagewebes im Organbad.....	71
Abbildung 20: Effekt von Cyclapolin 9 auf die Methoxamin-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	73
Abbildung 21: Effekt von Cyclapolin 9 auf die U46619-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	75
Abbildung 22: Effekt von Cyclapolin 9 auf die ET-1-induzierte Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	77
Abbildung 23: Effekt von Cyclapolin 9 auf die durch EFS ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	79
Abbildung 24: Effekt von Tak 960 auf die durch EFS ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	81
Abbildung 25: Effekt von Ro 3280 auf die durch EFS ausgelöste Kontraktion humanen Prostatagewebes im Organbad.....	83

## 9.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung Custodiol®-Lösung pro 1000 ml.....	43
Tabelle 2: Zusammensetzung Krebs-Henseleit-Stammlösung 1 (KH-1).....	44
Tabelle 3: Zusammensetzung Krebs-Henseleit-Stammlösung 2 (KH-2).....	44
Tabelle 4: Zusammensetzung finale KREBS-HENSELEIT-Lösung .....	44
Tabelle 5: Zusammensetzung der KCl-Lösung (2 mM) .....	45
Tabelle 6: Applikationsschema für Noradrenalin, Phenylephrin und Methoxamin..	51
Tabelle 7: Applikationsschema U46619 .....	53
Tabelle 8: Applikationsschema ET-1 .....	54
Tabelle 9: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + Noradrenalin in % der standardisierten KCl-Kontraktion.....	58
Tabelle 10: Varianzanalyse SBE 13 + Noradrenalin.....	58
Tabelle 11: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + Phenylephrin in % der standardisierten KCl-Kontraktion. ....	60

Tabelle 12: Varianzanalyse SBE 13 + Phenylephrin. ....	60
Tabelle 13: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + Methoxamin in % der standardisierten KCl-Kontraktion.....	62
Tabelle 14: Varianzanalyse SBE 13 + Methoxamin. ....	62
Tabelle 15: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + U46619 in % der standardisierten KCl-Kontraktion. ....	64
Tabelle 16: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + ET-1 in % der standardisierten KCl-Kontraktion. ....	66
Tabelle 17: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für SBE 13 + EFS in % der standardisierten KCl-Kontraktion. ....	68
Tabelle 18: Varianzanalyse SBE 13 + EFS.....	68
Tabelle 19: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + Noradrenalin in % der standardisierten KCl-Kontraktion. ....	70
Tabelle 20: Varianzanalyse Cyclapolin 9 + Noradrenalin.....	70
Tabelle 21: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + Phenylephrin in % der standardisierten KCl-Kontraktion.....	72
Tabelle 22: Varianzanalyse Cyclapolin 9 + Phenylephrin. ....	72
Tabelle 23: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + Methoxamin in % der standardisierten KCl-Kontraktion. ....	74
Tabelle 24: Varianzanalyse Cyclapolin 9 + Methoxamin.....	74
Tabelle 25: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + U46619 in % der standardisierten KCl-Kontraktion. ....	76
Tabelle 26: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + ET-1 in % der standardisierten KCl-Kontraktion.....	78
Tabelle 27: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Cyclapolin 9 + EFS in % der standardisierten KCl-Kontraktion. ....	80
Tabelle 28: Varianzanalyse Cyclapolin 9 + EFS.....	80
Tabelle 29: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Tak 960 + EFS in % der standardisierten KCl-Kontraktion. ....	82

Tabelle 30: Varianzanalyse Tak 960 + EFS. ....	82
Tabelle 31: Mittelwerte der konzentrationsabhängigen Kontraktionsstärke für Ro 3280 + EFS in % der standardisierten KCl-Kontraktion. ....	84
Tabelle 32: Varianzanalyse Ro 3280 + EFS. ....	84

### 9.3 Danksagung

Bei der Arbeit im Labor und der Erstellung der vorliegenden Dissertation haben mich zahlreiche Personen unterstützt. Dafür möchte ich mich sehr herzlich bedanken und im Folgenden einige Unterstützer besonders erwähnen.

Allen voran danke ich meinem Doktorvater Prof. Dr. rer. nat. Martin Hennenberg für die stetige und tatkräftige Unterstützung meiner Promotion. Sein Detailwissen und seine Erfahrung sowie die Hilfestellung während der Arbeit im Labor und danach haben diese Arbeit und die daraus entstandene Publikation erst möglich gemacht.

Ein besonderer Dank gilt außerdem Prof. Dr. med. Christian Stief, dem Direktor der Urologischen Klinik und Poliklinik am Klinikum der Universität München und Prof. Dr. med. Thomas Kirchner, dem Direktor des Pathologischen Instituts für die Bereitstellung von Ressourcen im Labor und der Zusammenarbeit in der Probengewinnung, sowie den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Pathologischen Instituts für die Unterstützung im Zuschnitt der Gewebeproben.

Dr. med. Qingfeng Yu gilt mein Dank für seine Unterstützung bei der Einarbeitung im Labor und allen technischen und methodischen Fragen, genauso wie für die schöne und kurzweilige Zeit im Labor.

Vielen Dank an Claudia Müller für das Korrekturlesen dieser Arbeit mit dem wichtigen ‚Blick von außen‘.

## 9.4 Veröffentlichung der vorgestellten Ergebnisse

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in:

*Inhibition of Prostate Smooth Muscle Contraction by Inhibitors of Polo-Like Kinases.*

Autoren: Martin Hennenberg, **Paul Kuppermann**, Qingfeng Yu, Annika Herlemann, Alexander Tamalunas, Yiming Wang, Beata Rutz, Anna Ciotkowska, Frank Strittmatter, Christian G. Stief und Christian Gratzke

Frontiers in Physiology, 15. Juni 2018. doi: 10.3389/fphys.2018.00734





LUDWIG-  
MAXIMILIANS-  
UNIVERSITÄT  
MÜNCHEN

Promotionsbüro  
Medizinische Fakultät



## Eidesstattliche Versicherung

Kuppermann, Paul

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Effekte von Inhibitoren der Polo-like Kinase 1 auf die glattemuskuläre Kontraktion der humanen Prostata

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 20.07.2020

Ort, Datum

Paul Kuppermann

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

